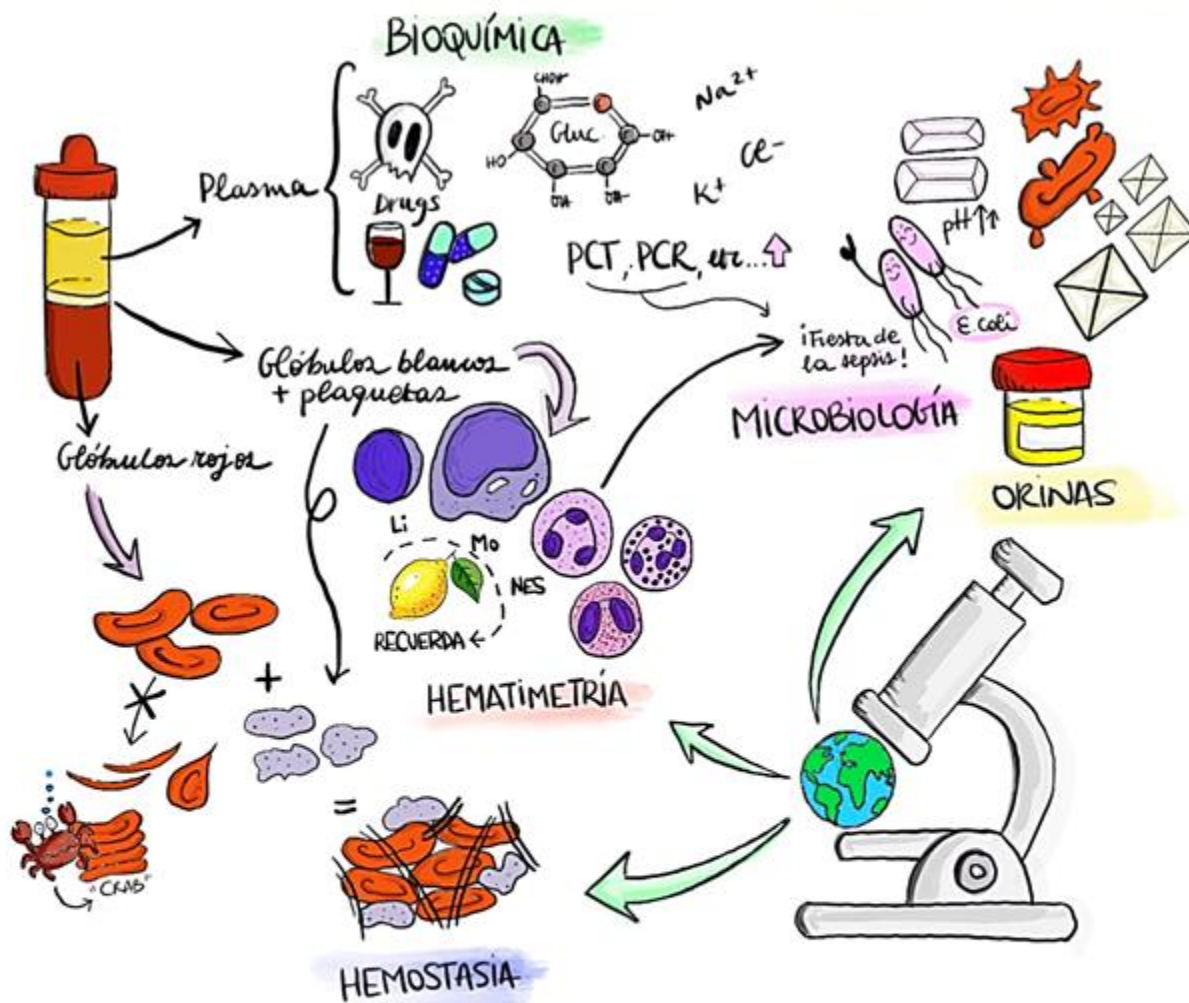


MANUAL de supervivencia PARA 1^{ero} DE RESIDENCIA

- COMISIÓN RESIDENTES AACC / BQ AEFA -



Realización: Comisión de Residentes de AEFA

Coordinación: Yasmín Douhal Fernández

MANUAL DE SUPERVIVENCIA PARA 1^{ERO} DE RESIDENCIA

Dirigido a los residentes de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica

Coordinación

Yasmín Douhal Fernández

Realización

Comisión de residentes de AEFA

Portada

Carla Martín Grau

AEFA. Asociación Española del Laboratorio Clínico

Primera edición, 2021

ISBN 978-84-09-32262-6

PRÓLOGO

Estimad@ residente, desde la Comisión de Residentes de AEFA queremos hacerte llegar este manual que hemos elaborado con todo nuestro cariño y nuestra buena voluntad para que los primeros meses y guardias en el hospital sean más llevaderos.

Esperamos que este manual *de supervivencia* te acompañe durante 1^{ero} y toda la residencia.

Un fuerte abrazo,

¡Bienvenid@ a la residencia!

La Comisión de Residentes de AEFA



AUTORES

Cristina Alberdi Garcia del Castillo. Residente de Análisis Clínicos. Hospital Universitario de Cabueñes, Gijón.

Laura de la Hoz Gil. Residente de Bioquímica Clínica. Hospital Universitario Severo Ochoa, Madrid.

Yasmín Douhal Fernández. Facultativo Especialista en Bioquímica Clínica.

Elsa Escuder Azuara. Residente de Análisis Clínicos. Hospital del Mar (Parc de Salut Mar), Barcelona.

Karen Vanesa Falcones Gracia. Facultativo Especialista en Análisis Clínicos. Unidad de Reproducción Asistida de Alicante, Alicante.

Carmen Ferrer Moure. Residente de Bioquímica Clínica. Hospital Universitario de Canarias, Santa Cruz de Tenerife.

Tara Hernández Lemes. Residente de Bioquímica Clínica. Complejo Hospitalario Universitario Insular-Materno Infantil, Las Palmas.

Natalia Jiménez Collados. Residente de Análisis Clínicos. Hospital General Universitario de Ciudad Real, Ciudad Real.

María Fuensanta López Marín. Residente de Análisis Clínicos. Hospital General Universitario de Albacete, Albacete.

Carla Martín Grau. Facultativo Especialista en Análisis Clínicos. Hospital Universitario Joan XXIII, Tarragona.

Alicia Mata Fernández. Facultativo Especialista en Bioquímica Clínica. Laboratorios Eurofins Megalab, Madrid.

Alba Muñoz Santa. Residente de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Arnau de Vilanova, Lleida.

Beatriz Nafría Jiménez. Residente de Bioquímica Clínica. Hospital Universitario Donostia, San Sebastián.

Isabel María Portell Rigo. Residente de Análisis Clínicos. Hospital de Poniente, Almería.

Paula Sirera Sirera. Residente de Análisis Clínicos. Hospital General Universitario de Alicante, Alicante.

Guillermo Velasco de Cos. Residente de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander.

Carolina Vilchez Medkouri. Residente de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Madrid.

REVISORES

Vicente Morales Elipe. Facultativo Especialista en Análisis Clínicos. Hospital General Universitario de Ciudad Real, Ciudad Real.

PORTADA

Carla Martín Grau. Facultativo Especialista en Análisis Clínicos. Hospital Universitario Joan XXIII, Tarragona.

ÍNDICE

CAPÍTULO 1. FASE PREANALÍTICA	página 1
CAPÍTULO 2. MAGNITUDES BIOQUÍMICA EN SUERO	página 16
CAPÍTULO 3. MAGNITUDES BIOQUÍMICA EN ORINA	página 23
CAPÍTULO 4. URIANÁLISIS: SISTEMÁTICO Y SEDIMENTO	página 29
CAPÍTULO 5. COAGULACIÓN	página 38
CAPÍTULO 6. HEMATIMETRÍA Y FÓRMULA MANUAL	página 44
CAPÍTULO 7. GASOMETRÍAS	página 50
CAPÍTULO 8. MONITORIZACIÓN DE FÁRMACOS TERAPÉUTICOS	página 58
CAPÍTULO 9. LÍQUIDOS BIOLÓGICOS	página 67
CAPÍTULO 10. MICROBIOLOGÍA	página 80
CAPÍTULO 11. TEST RÁPIDOS	página 90
CAPÍTULO 12. FASE POSTANALÍTICA	página 95
CAPÍTULO 13. CONTROL DE CALIDAD Y CALIBRACIÓN	página 105
ANEXO Y	página 111
ANEXO Z	página 118

CAPÍTULO 1. FASE PREANALÍTICA

Natalia Jiménez Collados ^{1*} y Alba Muñoz Santa ^{2*}

¹ Residente de Análisis Clínicos, Hospital General Universitario de Ciudad Real, Ciudad Real.

² Residente de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Arnau de Vilanova, Lleida.

* Ambos autores contribuyeron igualmente.

1. DEFINICIÓN Y PROCESOS DE LA PREANALÍTICA

La fase preanalítica comprende todos los procesos que comienzan cronológicamente desde que el facultativo peticionario realiza la solicitud analítica hasta que la muestra se recepciona, se registra en el sistema informático del laboratorio (SIL) y se procesa previo análisis (Figura 1).

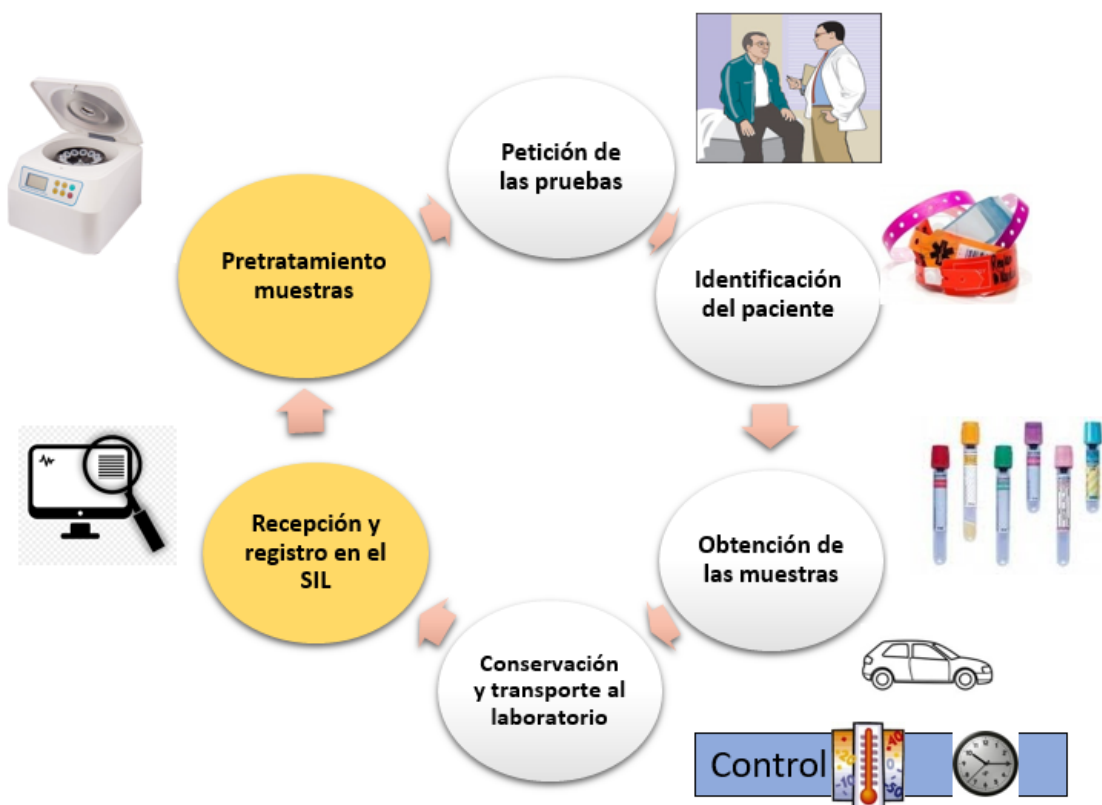


Figura 1. Procesos de la fase preanalítica extra e intralaboratorio. Elaboración propia.

Dentro de la fase preanalítica se distinguen dos etapas: la etapa extralaboratorio, que engloba todos los procesos que ocurren fuera del laboratorio, y la intralaboratorio que comprende el proceso de recepción, registro en el SIL y pretratamiento de las muestras.

Dado que los errores preanalíticos representan hasta un 60% de todos los errores que ocurren en el laboratorio, uno de los retos actuales del laboratorio clínico consiste en la mejora y control de todos los procesos preanalíticos en base a la norma ISO 9001:2015.

A continuación, se detallan algunos de los errores notificados en la literatura médica en cada uno de los procesos indicados en la Figura 1, así como acciones de mejora que pueden implementarse.

- Solicitud de las pruebas analíticas por parte del clínico: solicitud de pruebas inadecuadas (sobrediagnóstico o infradiagnóstico), falta de datos del paciente o médico peticionario.
- Identificación del paciente: cruce de solicitudes entre dos pacientes, falta de datos sobre el mismo (hora de recogida, tratamiento farmacológico, hábitos tóxicos) e identificación errónea.
- Obtención e identificación de las muestras: orden incorrecto en el llenado de tubos, contenedor o muestra incorrecta, volumen insuficiente, mala calidad (hemolizada, coagulada, lipémica, ictérica...), contaminación de muestra (por vía de infusión), momento del día erróneo (magnitudes biológicas sometidas a ritmo circadiano) o postura inadecuada durante la extracción, tiempo de ayuno insuficiente, etiquetado de la muestra incorrecto (cruce de pacientes) ...
- Conservación y transporte de la muestra: pérdida de muestras, transporte a temperatura incorrecta (ej.: alteración en la cadena de frío), presión, contenedor o tiempo inadecuado.
- Recepción y registro en el SIL: error de transcripción de datos de la petición y paciente, error de programación de la petición.

Los errores retrasan el procedimiento asistencial, generan exploraciones innecesarias, aumentan los costes, y lo que es peor, ponen en peligro la seguridad del paciente. Por ello, el sistema de calidad del laboratorio debe establecer un proceso de detección sistemático de errores, a través de indicadores e implementar acciones preventivas y/o correctivas.

Es importante recordar que el profesional del laboratorio debe implicarse en el diseño de perfiles diagnósticos, haciendo llegar la información a cada uno de los profesionales que participan del proceso analítico, así como mejorar la comunicación entre los clínicos y el laboratorio.

2. OBTENCIÓN Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS: GENERALIDADES

Con el objetivo de evitar que se cometan errores previos al análisis de un espécimen, desde el laboratorio se debe informar, a todos aquellos profesionales que se encuentran

implicados en el proceso preanalítico (enfermería, técnicos de laboratorio y clínicos, entre otros), acerca de:

- Condiciones preanalíticas óptimas de obtención de muestras.
- Correcto orden de llenado de los tubos durante la extracción sanguínea.
- Volumen necesario de muestra.
- Tipos de contenedores y aditivos, conservantes o anticoagulantes que contienen y el tipo de muestra en cada uno de ellos.
- Posibles interferencias que pueden derivar del uso inadecuado de los mismos.

A continuación, se desarrollan varios de estos aspectos.

2.1 Tipos de muestra y contenedores

En la Norma Internacional ISO 6710 se definen y estandarizan los distintos tipos de contenedores y aditivos para la recolección de muestras, así como el código de colores que identifica a cada uno de los tubos en función del anticoagulante que contienen (actualizado en 2017). A continuación, se definen los distintos tipos de muestras y en qué contenedores se recogen:

❖ **Sangre total**

Para su recolección se emplean contenedores que contienen anticoagulantes: heparina de litio sin gel separador para el estudio de gases en sangre arterial o venosa y la determinación de lactato; para realizar el cariotipo constitucional en sangre periférica se recomienda heparina sódica, debido a que el litio altera la división celular; y EDTA para analizar todos los parámetros del hemograma.

❖ **Suero**

Se obtiene empleando tubos sin anticoagulante, propiciando la formación completa del coágulo. Estos tubos contienen adheridos a su superficie interna activadores de la coagulación (ej.: micropartículas de sílice) que aceleran el proceso de coagulación, así como un gel inerte que, tras la centrifugación del tubo, permite separar físicamente el coágulo (en el fondo del tubo) del suero.

❖ **Plasma**

De forma general, el plasma es el sobrenadante que se obtiene tras la centrifugación de la sangre cuya coagulación está inhibida por la presencia de anticoagulantes en el tubo de extracción; se utilizan los siguientes:

- Sales de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)

El EDTA actúa como quelante de iones Ca^{2+} , impidiendo así su intervención en la cascada de coagulación y evitando que se complete.

Este anticoagulante respeta la morfología celular por lo que es el de elección para realizar el hemograma. Se puede emplear tanto la variante dipotásica (K₂ EDTA) como la tripotásica (K₃ EDTA).

- Citrato de sodio

Se emplea citrato trisódico que precipita los iones Ca²⁺ y evita que tenga lugar la agregación plaquetar. Conserva de manera adecuada los constituyentes involucrados en el proceso de coagulación, por ello se emplea para analizar los estudios de las distintas vías de la coagulación.

- Heparina

La heparina estimula la acción de la antitrombina III, acelera su combinación con diversos factores de la coagulación formando complejos inactivos y evita la conversión de protrombina a trombina en el proceso de coagulación. Se trata de un mucopolisacárido que incrementa su estabilidad al combinarse con un catión (Na⁺, Li⁺, NH₄⁺) para formar heparina sódica, heparina de litio o heparina de amonio.

La heparina de litio es el anticoagulante más empleado en las peticiones de bioquímica urgente, en tanto que la heparina sódica puede aumentar falsamente la concentración del ion Na⁺ en una muestra. Es también el aditivo de elección para realizar el estudio de gasometría (jeringas precargadas que lo contienen adherido en espray).

Otros anticoagulantes como el citrato y el EDTA, al ser quelantes de calcio, no pueden emplearse en bioquímica ya que interfieren en el análisis de determinaciones enzimáticas (amilasa o la fosfatasa alcalina) que requieren de este catión u otro como cofactor. También interfieren en la determinación del ion calcio y potasio.

- Otros

Se dispone de otros aditivos específicos, como el oxalato potásico (anticoagulante) o el fluoruro sódico, que inhibe la vía glucolítica. En combinación se emplean para determinar glucosa, lactato o piruvato en especímenes que tardarán tiempo en procesarse.

Suero	Plasma
Tubo sin anticoagulante	Tubo con anticoagulante
Muestra adecuada para numerosas determinaciones (bioquímicas, inmunológicas, marcadores tumorales)	Posibles interferencias con el anticoagulante

Mayor tiempo de procesado: retracción del coágulo y posterior centrifugación	Procesamiento preanalítico inmediato
Menor disponibilidad de sobrenadante tras la centrifugación	Rendimiento de muestra superior al suero (15-20% más de sobrenadante)
Al no contener fibrinógeno la estabilidad de los analitos es superior	Estabilidad de analitos reducida por la presencia de fibrinógeno
El valor de potasio puede aumentar al liberarse desde células y plaquetas durante la coagulación	Niveles de potasio más estables

Tabla 1. Principales diferencias entre suero y plasma. Elaboración propia a partir del tema de formación continuada *Importancia de la fase preanalítica en el laboratorio realizado por SEQC^{ML} (2019-2020).*

❖ Orina

El análisis sistemático de orina con sedimento urinario representa un alto porcentaje del total de análisis de orina que se solicitan al Laboratorio de Urgencias.

Para este y otros estudios, se recomienda recoger la muestra en recipientes estériles de plástico de boca ancha, sin conservantes ni aditivos y, a ser posible, que incorporen dispositivos de transferencia de la orina a tubos de recogida por sistema de vacío. Esto último queda justificado por el incremento que supone en la seguridad del paciente, puesto que se reducen errores de etiquetado, así como se reduce el riesgo de contaminación, derramamiento o exposición accidental del personal implicado en la manipulación de la muestra. No obstante, existen excepciones en las que debido a las condiciones del paciente este contenedor no puede emplearse: en lactantes y niños de corta edad se recurre al uso de una bolsa de plástico pediátrica que, a través de un adhesivo, permite que el niño miccione directamente en ella. En otras circunstancias y para evitar la contaminación de la orina, la recogida puede realizarse mediante punción suprapúbica o cateterismo de vejiga.

Finalmente, el uroanálisis se realizará en un tubo de fondo redondeado o cónico, preferiblemente en este último pues permite llevar a cabo el estudio bioquímico de la orina y el análisis microscópico del sedimento urinario en el mismo contenedor.

❖ Líquidos biológicos

Para llevar a cabo el análisis bioquímico de los líquidos biológicos (pleural, sinovial, ascítico, peritoneal, pericárdico, etc.), por lo general se utilizan contenedores sin aditivos, aunque también se pueden emplear tubos con heparina de litio. Por otro lado, la muestra para realizar el recuento celular se debe enviar al laboratorio en tubos que contengan EDTA-K₃ líquido para prevenir la coagulación, en particular si se trata de una afección inflamatoria en la que el fibrinógeno y otros factores de coagulación pueden estar presentes.

La recolección suele realizarse en 3 tubos, siendo el orden de llenado óptimo:

1. Estudio bioquímico (heparina de litio).
2. Análisis microbiológico (contenedor estéril sin aditivos).
3. Recuento celular y diferencial (EDTA).

Sin embargo, dada la dificultad que en ocasiones puede suponer la extracción de este espécimen, sólo se dispone de un único tubo para realizar el estudio completo. En tal caso, se emplearán tubos de heparina de litio y sin la presencia de gel separador, ya que puede interferir en el recuento celular.

Por su parte, el líquido cefalorraquídeo (LCR) se recoge en tubo estéril sin aditivos, debido a que en esta muestra existe una baja concentración de células y proteínas que podría verse falsamente alterada por la presencia de aditivos.

Finalizada la extracción, todos los líquidos deben enviarse al laboratorio de urgencias para analizarse de inmediato, ya que rápidamente comienza la degeneración celular. Además, se recomienda que el transporte se realice de forma personal (fundamental si se trata de LCR).

Espécimen	Contenedor	Determinaciones
Suero	 Acelerador de la coagulación (con gel separador)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Parámetros bioquímicos (excepto amonio) ▪ Serología ▪ Fármacos
Plasma	 Heparina de litio (con gel separador)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Parámetros bioquímicos (excepto litio y amonio) ▪ Fármacos ▪ Lactato
	 K ₂ EDTA/K ₃ EDTA	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Amonio
	 Citrato trisódico	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estudios de coagulación
Sangre total	 Jeringa con heparina de litio (sin gel separador)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Gasometría ▪ Lactato





		K ₂ EDTA/K ₃ EDTA	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hematimetría
Orina		Tubo estéril	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sistemático ▪ Sedimento urinario ▪ Parámetros bioquímicos en orina ▪ Drogas de abuso
Líquidos biológicos (a excepción del LCR)		K ₂ EDTA/K ₃ EDTA	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Recuento celular
		Heparina de litio (sin gel separador)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Recuento celular ▪ Parámetros bioquímicos
LCR		Tubo estéril sin aditivos	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Recuento celular ▪ Parámetros bioquímicos

Tabla 2. Resumen de los principales tipos de muestras, aditivos y determinaciones realizadas en el laboratorio de urgencias. Elaboración propia a partir del Manual de Urgencias del Laboratorio Clínico realizado por AEBM (2013).

2.2 Orden de llenado de tubos

Un aspecto fundamental que se debe tener en cuenta al realizar la extracción de muestras sanguíneas es el orden de llenado de los tubos. La importancia de seguir dicho orden radica en asegurar una calidad óptima de las muestras, así como evitar la contaminación cruzada de aditivos entre los distintos tubos.

Si la extracción se hace mediante sistema de **vacío**, el orden de llenado es el que se indica en la Tabla 3, en cambio, si se realiza empleando un sistema de seguridad de palomilla, primero se debe llenar el tubo de suero tapón amarillo y a continuación el tubo de coagulación tapón azul (previniendo un llenado insuficiente del tubo de citrato).

Es importante recordar también que, finalizado el proceso de extracción, se han de homogeneizar las muestras mediante una serie de inversiones suaves, asegurando así una correcta disolución de los aditivos que contiene cada tubo.








Color tapón	Aditivo	Principal aplicación	Inversiones
	Polianetol sulfonato sódico	Microbiología (hemocultivo)	5 veces
	Citrato de sodio	Coagulación	3-4 veces
	Activador de la coagulación y gel separador	Bioquímica, serología	5 veces
	Heparina de litio	Bioquímica, gasometría	8-10 veces
	EDTA K ₂ /EDTA K ₃	Hematología, banco de sangre	8-10 veces
	EDTA K ₂ y gel separador	Determinaciones de carga viral	8-10 veces
	Fluoruro sódico y oxalato potásico	Bioquímica, determinaciones de lactato y glucosa	8 veces

Tabla 3. Orden de toma de muestras. Tomado de Guía de uso de Productos BD Vacutainer® (2013).

2.3 Volumen óptimo de muestra

En el área preanalítica del laboratorio de urgencias, en numerosas ocasiones tras recepcionar, pero, sobre todo, tras la centrifugación de las muestras observamos que los tubos no alcanzan el volumen requerido para llevar a cabo un determinado análisis que proporcione los resultados de laboratorio que se solicitan.

El volumen de llenado de los contenedores debe adecuarse a las indicaciones del fabricante. Esto es especialmente importante en aquellos tubos que contienen anticoagulantes como citrato trisódico o EDTA:

- ❖ **Citrato trisódico:** para realizar el estudio de coagulación, la proporción entre citrato:sangre debe ser 1:9 y para determinar la velocidad de sedimentación, 1:4. Para que esta relación se cumpla, la muestra debe alcanzar un nivel situado entre la parte inferior y superior de la marca del tubo de coagulación. De no ser así, la proporción de citrato se vería alterada, generando modificaciones en los resultados:
 - Si se recoge menor volumen (relación 1:7), el citrato en exceso forma complejos con el calcio, así, el tiempo de tromboplastina parcial activada (TPA) y el tiempo de protrombina (TP) estarían falsamente incrementados.

- Si se llena en exceso, habría más plasma del que corresponde, disminuyendo por tanto la relación citrato:sangre y provocando un acortamiento de los tiempos.
- ❖ **EDTA:** en este caso cabe destacar que, si no se alcanza un volumen de llenado adecuado, variaciones en la relación anticoagulante y muestra pueden provocar alteraciones en la forma y tamaño de hematíes, leucocitos y plaquetas, ya que aumenta la proporción de sales de anticoagulante que a su vez provocan un incremento de la osmolaridad.

En cualquier caso, tanto si se trata de un tubo que contiene aditivos como si no, el volumen de muestra ha de ser suficiente para llevar a cabo un análisis de calidad, proporcionando al clínico resultados fiables para establecer un diagnóstico certero. A continuación, en la tabla 4 se muestran varios ejemplos de volúmenes de muestra recomendados para la realización de los estudios que se solicitan con mayor frecuencia en el Laboratorio de Urgencias.

Estudio	Volumen	Comentario
Bioquímica en suero	4,5 mL	-
Hematología	2-3 mL	-
Coagulación	2-3 mL	-
Gasometría arterial o venosa	1 mL	Se requieren 50 µL para muestra capilar
Bioquímica en orina y sedimento urinario	10-12 mL	Excepto niños o pacientes oligoanúricos, en los que se admiten volúmenes menores para su estudio
Bioquímica, recuento y fórmula diferencial en LCR	8 mL	3-4 mL para muestras pediátricas

Tabla 4. Volúmenes estándar de muestra para la realización de determinados análisis. Elaboración propia a partir de MOOC_LabClin_Líquidos Bilógicos realizado por AEFA (2019).

2.4 Otras consideraciones

Finalmente, para poder determinar los analitos es necesario **centrifugar** las muestras. No obstante, debemos tener en cuenta lo siguiente:

- Para aquellos estudios que se realizan en sangre total, como por ejemplo la hematimetría y la gasometría, no se centrifuga la muestra.
- Se ha de tener especial precaución en el caso de los líquidos biológicos, pues en primer lugar se realiza el recuento celular y a continuación se procedería a centrifugarlos para analizar los parámetros bioquímicos.
- En cuanto a los especímenes de orina, excepto que se trate de una muestra muy hemática que pueda interferir con los test a realizar, para el sistemático no es necesaria

su centrifugación. Sí lo es en caso de tener que hacer la lectura del sedimento o si se van a determinar parámetros bioquímicos.

El proceso de centrifugación consiste básicamente en la separación por sedimentación de los componentes sólidos de los especímenes (líquidos) biológicos, de esta manera, las células no interfieren en la medición de los parámetros analíticos. Cada laboratorio debe establecer las condiciones de centrifugación (revoluciones por minuto (rpm) y tiempo) que considere óptimas para los distintos tipos de muestras.

En el caso de las muestras sanguíneas, se recomienda que, el tiempo transcurrido entre la extracción y la llegada al laboratorio de una muestra sin centrifugar, que tuviera que pasar este proceso, no supere las dos horas. La demora en la centrifugación supone un contacto continuo con las células, lo que podría provocar la degradación de determinados analitos por proteólisis, la difusión de elementos como el potasio hacia el exterior celular incrementando sus niveles o, debido al metabolismo celular (glucólisis) producir un descenso en la concentración de los analitos.

En cuanto a la **conservación** de especímenes, en función del tipo, del parámetro que se vaya a determinar, y de cuándo se vaya a realizar el análisis, las muestras han de conservarse en unas condiciones preestablecidas.

Es conveniente que cada laboratorio defina los protocolos necesarios para la conservación de muestras. Para su desarrollo, existe documentación que puede ayudarnos, como es la base de datos sobre la estabilidad de magnitudes desarrollada por la Comisión de Garantía de la Calidad Preanalítica de la SEQC^{ML}. También se dispone de manuales elaborados por fabricantes de contenedores (o tubos), en los que se recoge información relativa a qué espécimen es el adecuado para medir un analito (se incluyen numerosos parámetros), así como de la estabilidad de los analitos en sangre a temperatura ambiente y en suero/plasma a -20°C, 4-8°C y a 20-25°C.

3. INTERFERENCIAS PREANALÍTICAS

Las interferencias preanalíticas son las principales causas de errores analíticos. De no ser detectadas, la orientación diagnóstica puede ser equivocada y conllevar un riesgo en la salud del paciente.

La hemólisis, lipemia e ictericia son las principales interferencias preanalíticas. Su detección visual es imprecisa y subjetiva, motivo por el cual se han incorporado en los autoanalizadores los **índices séricos**: medidas cuantitativas o semicuantitativas indicativas del grado de hemólisis, ictericia y turbidez en la muestra, que se expresan en forma de unidades de concentración (mg/dL, unidades SI) o mediante una escala ordinal sin unidades.

La estimación de estos índices se realiza a partir de valores de absorbancia obtenidos a diferentes longitudes de onda y a partir de fórmulas que tienen en cuenta correcciones para compensar el solapamiento espectral debido a más de un factor interferente. Tanto el índice de hemólisis como el de ictericia se correlacionan con la concentración de hemoglobina y bilirrubina, respectivamente. Sin embargo, el índice de lipemia no es correlativo con la concentración de triglicéridos, sino que se trata de una medida de dispersión de luz dependiente del tamaño de las partículas.

A continuación, se detallan los mecanismos de interferencia preanalítica más importantes:

3.1 Hemólisis

La hemólisis *in vitro* es la principal causa de rechazo preanalítico de muestras de suero (el 40-70% de las muestras rechazadas) y consiste en la lisis de hematíes y otras células sanguíneas durante la fase preanalítica debido principalmente a factores relacionados con la flebotomía (excesivo tiempo de torniquete, punción traumática, mezclado excesivo o escaso de la muestra en el contenedor tras la extracción); aunque también al transporte de la muestra al laboratorio (agitación durante el transporte o enfriamiento/calentamiento excesivo) o durante el procesamiento de la misma (inadecuada centrifugación).

Aunque la hemólisis *in vitro* es más frecuente que la *in vivo*, es **muy importante** saber distinguir una de otra en tanto que la hemólisis *in vivo* es una situación patológica (anemia hemolítica autoinmune, defectos eritrocitarios, hemoglobinuria paroxística nocturna, entre otras) y los parámetros alterados tienen relevancia clínica. **El rechazo de la muestra en este último caso se considera una mala práctica.**

Principales mecanismos de interferencia hemólisis *in vitro*

- **Liberación del contenido intracelular al plasma:** en una muestra artefactada por la hemólisis, se incrementa falsamente y de forma más notoria: potasio, lactato deshidrogenasa (LDH) y aspartato aminotransferasa (AST). Magnitudes como alanina aminotransferasa (ALT), creatina quinasa (CK), magnesio, folato y fosfato también pueden verse aumentadas por este mecanismo.
- **Efecto dilucional:** constituyentes como el ion sodio, cloruro y albúmina se encuentran falsamente disminuidos debido a este efecto.
- **Otros mecanismos:** interferencias espectrales (falso aumento del hierro, lipasa); interferencias químicas (falsa disminución de la bilirrubina por la actividad pseudoperoxidasa que inhibe la formación de color del diazonio en el método de *Jendrassik y Grooff*); proteólisis.

Caso práctico: Diferenciación entre hemólisis *in vitro* e *in vivo*

Ante una muestra hemolizada, deben comprobarse las siguientes premisas y se sospechará de hemólisis *in vitro* si:

- Sólo una de las muestras se encuentra hemolizada.
- Si la concentración de **bilirrubina, haptoglobina y reticulocitos** se encuentra dentro de los intervalos fisiológicos. En el laboratorio de urgencias y ante casos dudosos, es recomendable generar estas pruebas si están disponibles.
- Pedir nueva muestra para confirmar resultados y descartar hemólisis *in vitro*.

Por el contrario, la hemólisis *in vivo*, se caracteriza por el aumento paralelo de hemoglobina, LDH y bilirrubina, descenso incrementado de haptoglobina y niveles normales de potasio. El suero/plasma no siempre tiene porque adquirir una coloración roja.

3.2 Lipemia

La lipemia se define como la turbidez que puede detectarse visualmente en una muestra de suero/plasma debido a la acumulación de lipoproteínas, principalmente de las más grandes, como es el caso de los quilomicrones (QM) y de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) de tamaño grande-medio.

Después de la hemólisis, es la interferencia preanalítica más frecuente y se asocia principalmente a la toma de muestra sin guardar el tiempo de ayuno recomendado en pacientes ambulatorios. En pacientes hospitalizados, la lipemia suele deberse a la toma de muestra tras la administración parenteral de infusiones lipídicas. En menor medida, también puede ser causa de situaciones patológicas como diabetes mellitus, pancreatitis, mieloma múltiple, hipotiroidismo o ciertos tratamientos (estrógenos, anticonceptivos o antiproteasas en infecciones de VIH).

Principales mecanismos de interferencia de lipemia

- **Dispersión de la luz:** la abundante presencia de lípidos dispersa la luz en todo el espectro visual y en consecuencia se afectan con sesgo negativo las medidas realizadas por métodos espectrofotométricos. En mayor medida, las que se realizan a menores longitudes de onda (ej. Métodos en medida de glucosa, ALT, AST, que emplean cambios en la concentración de NADPH⁺ medidos a 340 nm).
- **Desplazamiento del agua:** en una muestra lipémica, al aumentar la proporción de lípidos en el plasma, constituyentes como los electrolitos que se distribuyen en la fase acuosa, pasan a ocupar un menor volumen (de hasta el 75%) por lo que métodos como la potenciometría indirecta que emplean la dilución de la fase acuosa para extrapolar la medición al volumen total del plasma (incluida la fase lipídica), infravaloran la concentración de los mismos dando lugar a fenómenos de

pseudohiponatremia y pseudohipopotasemia. Métodos de potenciometría directa, miden la concentración real y no se ven afectados por la lipemia.

Caso práctico: ¿Qué hacer ante una muestra lipémica?

Ante un índice lipémico positivo o tras inspección visual de la muestra lipémica, es conveniente realizar las mediciones bioquímicas en una muestra clara previa eliminación de la interferencia. Existen diferentes formas para la eliminación de la lipemia, el *gold standard* consiste en la ultracentrifugación de la muestra, no disponible en gran parte de los laboratorios asistenciales. Como alternativa, suele realizarse una centrifugación a 10000xg durante 10 minutos tomando el infranadante; o protocolos de extracción a partir de solventes orgánicos empleados en diferentes reactivos comerciales. Este último método no es aplicable para la medición de todos los parámetros (*ver protocolos de cada hospital*).

Para constituyentes distribuidos en la fase lipídica (hormonas, medicamentos y otras sustancias hidrófobas), se recomienda realizar la medida previa dilución de la muestra (factor 1:2, 1:3).

Es importante tener en cuenta que un índice lipémico puede tratarse de un falso positivo ante la presencia de moléculas no lipídicas que originan turbidez en la muestra. En este caso, se habría de investigar el origen de la turbidez en tanto que puede tratarse de una paraproteína M en un paciente posiblemente no diagnosticado.

3.3 Ictericia

Una muestra icterica se caracteriza por una intensa coloración amarilla del plasma debido a patologías que cursan con incrementos de bilirrubina superior a 100 $\mu\text{mol/L}$. El mecanismo de interferencia puede ser tanto químico como espectral y puede afectar a resultados analíticos de albúmina, colesterol, triglicéridos, glucosa y proteínas totales.

3.4 Muestra coagulada

Puede deberse a una extracción lenta, a la mezcla incorrecta del anticoagulante con la muestra o al defecto del propio anticoagulante (ej. Lotes de tubos caducados).

Se debe sospechar la presencia de coágulo en una muestra ante un recuento bajo de plaquetas y TTPA bajos. En ambos casos, antes de entregar el resultado tanto del hemograma como de las pruebas de coagulación, hay que comprobar si existe o no coágulo. En el caso de la gasometría, la presencia de un coágulo en el interior de la jeringa puede llevar a la obturación del equipo. Es por ello por lo que se insiste en el purgado de la misma previamente a su procesamiento. De encontrar coágulo, la muestra debe rechazarse sin ser procesada. En general y ante una muestra coagulada, el laboratorio debe notificarlo y pedir una nueva extracción para poder obtener resultados acordes al estado clínico del paciente.

3.5 Preanalítica gasometrías

Las muestras destinadas a gasometrías son especialmente sensibles a errores de tipo preanalítico. Por ello y antes de su procesamiento, es importante comprobar que no existe coágulo ni burbujas o cámaras de aire en la muestra. Además, ha de procesarse de inmediato a su llegada al laboratorio, de lo contrario, los valores tanto de pH como de los gases a medir pueden verse alterados por acción del metabolismo celular. En la Figura 2 se muestran dos ejemplos en los que los valores obtenidos son erróneos debido a una muestra procesada con burbujas (A) y otra procesada 3h tras su extracción (B).

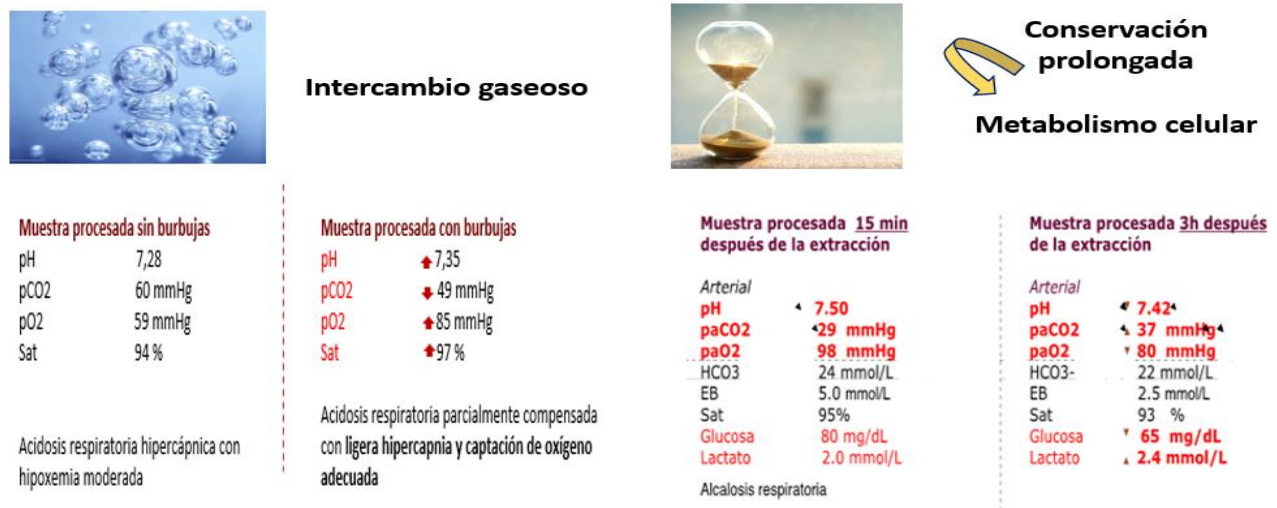


Figura 2. Ejemplo de error preanalítico en gasometría: (A) Burbujas en muestra; (B) procesamiento tardío. Elaboración propia a partir de un caso clínico.

3.6 Preanalítica coagulación

La muestra de plasma citrato (coagulación) es junto a la gasometría, muy sensible a errores preanalíticos. Lo más importante antes de procesarla es comprobar que la muestra está enrasada preferentemente en la línea superior de llenado. Muestras con un nivel de llenado por debajo del 10% frente a esta línea, deberían rechazarse con motivo de “muestra insuficiente” y reclamar nueva muestra.

Esto es así en tanto que llenados inferiores al 90% provocan una desviación significativa en los resultados de coagulación, en este caso con mayor efecto sobre el TTPA (alargado). El TP se alarga en llenados inferiores al 70%, especialmente en pacientes anticoagulados.

4. BIBLIOGRAFÍA

1. Formoso Lavandeira M.D., *et al.* Gestión de los procesos preanalíticos en los laboratorios clínicos según los requisitos de la Norma UNE-EN ISO 15189:2013. Recomendación (2015). Revista del Laboratorio Clínico, volumen 9, número 4, 2016, páginas 189-194.
2. Nikolac, N. (2014). Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management. *Biochemia medica: Biochemia medica*, 24(1), 57-67.
3. Mainali, S., Davis, S. R., & Krasowski, M. D. (2017). Frequency and causes of lipemia interference of clinical chemistry laboratory tests. *Practical Laboratory Medicine*, 8, 1-9.
4. Castro-Castro M, Candás-Estébanez B, Esteban-Salán M, Calmarza P, Arrobas-Velilla T, Romero-Román C, Pocoví-Mieras M, Aguilar-Doreste J, COLAVDSEDQC. Removing Lipemia in Serum/Plasma Samples: A Multicenter Study. *Ann Lab Med* 2018; 38:518-523.
5. Alfonso Medina, M.P., Albelo Manuel, L., Albert Botella, L., y col. Manual de Urgencias del Laboratorio Clínico 2013. 2013:16-41.
6. Guder, W.G., Fonseca-Wollheim, F.da., Heil, W., Schmitt, Y., Töpfer, G., Wisser, H., Zawta, B. Quality of Diagnostic Samples. Recommendations of the Working Group on Preanalytical Quality of the German Society for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 3rd. 2010.
7. Peña Cobia, A., Giménez Alarcón, M^aL. Importancia de la fase preanalítica en el laboratorio. Programa de formación continuada SEQC 2019-2020.
8. Navajas Luque, F. El aspecto del suero y sus interferencias. El empleo de los índices séricos. Programa de formación continuada AEFA 2020.
9. Caballero Sánchez-Robles, L., Chafer Rudilla, M., Franquelo Gutiérrez, R., y col. El Laboratorio Clínico: Preanalítica de muestras de orina. 2007:28-30.
10. Adamoli Vidal, V., Andrés Fernández, C., Agarrado Roldán, A., y col. El Laboratorio Clínico 3: Análisis de las muestras de orina. 2011:39-54.
11. Noguera Velasco, J.A., Cebreiros López, I. Curso Líquidos Biológicos de AEFA. 2019.

CAPÍTULO 2. MAGNITUDES BIOQUÍMICAS EN SUERO

Karen Vanesa Falcones Gracia ^{1*} y Beatriz Nafría Jiménez ^{2*}

¹ Facultativo Especialista de Análisis Clínicos, Unidad de Reproducción Asistida de Alicante, Alicante.

² Residente de Bioquímica Clínica, Hospital Universitario Donostia, San Sebastián.

* Ambos autores contribuyeron igualmente.

1. INTRODUCCIÓN

Las pruebas analíticas permiten gestionar una información precisa y muy útil puesto que sirven de soporte al clínico para ayudar a obtener un diagnóstico-pronóstico y un seguimiento del estado de la salud. Por tanto, uno de los objetivos básicos del laboratorio clínico es dar información bioquímica exacta y pertinente que debe utilizarse de forma adecuada para orientar las decisiones médicas. Concretamente, el perfil bioquímico es el conjunto de parámetros medidos en sangre periférica, que informan del estado metabólico e hidroelectrolítico y de la presencia de disfunción de órganos. Para su determinación, el laboratorio clínico emplea gran diversidad de técnicas analíticas que, con el paso del tiempo, se ha conseguido automatizar la mayoría de ellas. Señalar que, si bien los laboratorios deben obtener resultados fiables lo más rápido posible, algunas solicitudes se categorizan como urgentes ya que es posible que sus resultados influyan inmediatamente en el tratamiento del paciente. A continuación, se detallan las principales magnitudes bioquímicas disponibles en el laboratorio de urgencias, así como una breve descripción del fundamento del método de medición empleado para su determinación.

2. MAGNITUDES BIOQUÍMICAS EN SUERO MÁS COMUNES EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS

2.1 Glucosa

Es el carbohidrato más importante de la sangre que, al oxidarse, constituye la mayor fuente de energía celular en el organismo. Su concentración sérica está umentada en diversas patologías, entre las que destacan: diabetes *mellitus*, pancreatitis, insuficiencia renal, hepatopatías y disfunción tiroidea. Por el contrario, la hipoglucemia está causada por exceso de insulina.

2.2 Creatinina

Es un producto de degradación de fosfato de creatina muscular, dependiente de la masa de músculo, que se filtra en los glomérulos renales y no se reabsorbe en los túbulos. Por tanto, se emplea en el diagnóstico de la insuficiencia renal crónica, umentando su concentración sanguínea cuando hay un marcado daño en las nefronas.

La producción de creatinina en condiciones normales depende de nuestra masa muscular, actividad física y de la ingesta proteica. También está influenciada por condiciones patológicas como la cirugía, atrofia muscular o incluso el avance de la edad. Pero el gran interés de medir el valor de la creatinina radica en que el riñón es capaz de excretarla sin transformarla, con lo que la relación entre la creatinina en sangre y orina es un excelente marcador de la función renal.

La ecuación de *Cockcroft-Gault* (FGC) facilita el cálculo del filtrado glomerular (FG) a partir de los valores de creatinina sérica, peso, talla y edad del paciente. Los resultados de la ecuación sólo suelen ser precisos en pacientes con insuficiencia renal crónica y función renal estable, y que no sean excesivamente obesos ni edematosos. Al no necesitar colección de orina de 24 horas, la FGC es más práctica, económica y de fácil manejo, razones que justifican realizar esta investigación para introducir esta forma de estimar por el laboratorio el funcionamiento glomerular.

2.3 Urea

Es el producto final del metabolismo del nitrógeno proteico. Su síntesis tiene lugar en el hígado, mediante el ciclo de la urea, a partir del amoníaco derivado de la desaminación de los aminoácidos. Su excreción tiene lugar principalmente a través de los riñones, por lo que su determinación en sangre es una prueba muy útil para el estudio de la función renal. Una elevación en su valor implica un deterioro en la función renal (y también si hay periodos de elevada ingestión de proteínas).

2.4 Bilirrubina total

Se forma en el sistema retículo endotelial por degradación de eritrocitos viejos y en el hígado se solubiliza por conjugación con ácido glucurónico. Normalmente, la concentración sérica de bilirrubina total es de 0,3 a 1,0 mg/dL. Niveles umentados de bilirrubina indirecta (sin conjugar) en suero se debe a enfermedades en las cuales, debido al exceso de hemólisis, se produce más bilirrubina de la que es posible metabolizar (ej.: inmadurez hepática).

- Bilirrubina directa o conjugada

Aumenta debido a la obstrucción del conducto biliar o daño hepatocelular.

Cuando se realiza un análisis de rutina se miden la **bilirrubina total (directa más indirecta)** y la bilirrubina directa. De la diferencia de ambas, se obtiene la cuantificación de la bilirrubina indirecta o no conjugada, la cual corresponde al 70-85%.

2.5 ALT (alanina-aminotransferasa) /GPT (glutamato-piruvato transaminasa)

Es una enzima que se encuentra en riñón, corazón, músculo esquelético, bazo, páncreas, tejido pulmonar, aunque su mayor actividad es en hígado. Concentraciones elevadas de ALT se encuentran en hepatitis, ictericia obstructiva, cirrosis y alcoholismo. Si bien, un aumento de ALT aparece a su vez con un aumento de AST, la ALT es la enzima más específica del hígado. Una reducción puede relacionarse con la disminución de fosfato de piridoxal (forma activa de la vitamina B6, grupo prostético).

2.6 AST (aspartato-aminotransferasa) /GOT (transaminasa glutámico-oxalacética)

Es una enzima que se encuentra en riñón, músculo esquelético, hígado, mucosa gástrica, cerebro, tejido adiposo, aunque su mayor actividad es en el miocardio. Concentraciones elevadas de AST se encuentran en lesiones de estos tejidos, tales como hepatopatías (hepatitis alcohólica aguda, cirrosis y en obstrucción de vías biliares), distrofia muscular y lesiones orgánicas. Es un indicador de infarto de miocardio (aumenta a partir de las 6 primeras horas, con un pico a las 36 horas). Una reducción puede aparecer en pacientes con diálisis renal o con déficit de vitamina B6.

2.7 Amilasa

Existen dos tipos de amilasa: P o pancreática (formación casi exclusiva en páncreas) y S o salival (síntesis en glándulas salivales, lágrimas, sudor, leche materna, líquido amniótico, pulmones, testículos y epitelio de los oviductos).

Su determinación juega un papel muy importante en el diagnóstico de enfermedades del páncreas, ya que presentan por lo general síntomas clínicos poco específicos.

La amilasemia asciende en pancreatitis aguda y crónica, así como en el cáncer de páncreas. Otras situaciones en que aumenta son parotiditis, algunos carcinomas (pulmón, esófago, ovario), procesos parapancreáticos (gastritis, peritonitis, obstrucción intestinal), insuficiencia renal, neumonía, cetoacidosis diabética y macroamilasemia (formación de complejos con IgG). La amilasemia disminuye en hepatopatías, quemaduras, insuficiencia cardíaca congestiva y, a veces, neumonías e insuficiencias exocrinas del páncreas.

2.8 Lipasa

Son hidrolasas de triglicéridos que catalizan su paso a diglicéridos y monoglicéridos y ácidos grasos. Es, junto con la α -amilasa, uno de los parámetros más importantes en enfermedades pancreáticas. Su concentración en sangre aumenta en las pancreatitis agudas, pancreopatías crónicas y en afecciones hepáticas secundarias a patologías pancreáticas. Aunque puede aumentar también en casos de parotiditis, obstrucción intestinal y en cáncer de hígado, su incremento es muy sensible y específico para los trastornos pancreáticos citados. Después de una pancreatitis aguda, la actividad de la lipasa aumenta en el plazo de

4 a 8 horas, alcanzando su máximo a las 24 horas. Sin embargo, no existe correlación entre la actividad sérica de la lipasa y el grado de lesión pancreática.

2.9 Lactato deshidrogenasa

La enzima lactato deshidrogenasa (LDH) se encuentra en el citoplasma de células del tejido cardíaco, renal, hepático y esquelético. Su determinación es útil en el diagnóstico y tratamiento de diversas hepatopatías (hepatitis agudas con o sin ictericia), así como cardiopatías (IAM) y en afecciones pulmonares y renales.

Su concentración se encuentra elevada en el infarto de miocardio a las 24-36 horas, siendo constante hasta el 7º - 16º día. Del mismo modo, está aumentada en pancreatitis, distrofias musculares, accidentes cerebrovasculares, mononucleosis infecciosa, cáncer diseminado, linfomas, leucemia mieloide crónica en brote agudo, eritroblastosis fetal y, en general, en procesos de desintegración hística. Dado que los hematíes contienen altos niveles de lactato deshidrogenasa, ante sueros muy hemolizados, se ve interferido el resultado.

2.10 Creatinina quinasa

Su concentración aumenta en el infarto de miocardio (concretamente la *CK-MB* en los primeros días), en miopatías congénitas (*CK-MM* en la distrofia muscular progresiva) y en miopatías adquiridas, rhabdomiolisis, accidente cerebrovascular, traumatismos, alcoholismo, hipotiroidismo, *shock* no-cardiogénico (-MM), intoxicación con drogas de abuso y coma.

2.11 Proteína C reactiva

Es una proteína de fase aguda, siendo muy sensible y su concentración aumenta muy rápido en procesos de inflamación. Se sintetiza en el hígado y en sangre, en condiciones fisiológicas normales, se encuentra en una cantidad mínima. Su determinación sirve para conocer procesos inflamatorios sistémicos, evaluar el tratamiento con antibióticos y también en procesos no inflamatorios tales como artritis reumatoide, enfermedades de los vasos sanguíneos coronarios y periféricos.

Sin embargo, hay que tener en cuenta que valores elevados de PCR no son específicos y habría que tener un conocimiento completo de la historia clínica del paciente.

2.12 Procalcitonina

Es una prohormona que se expresa en las células neuroendocrinas (tejido tiroideo, pulmonar y pancreático) y se desdobra a calcitonina, calcitonina y una región N-terminal. Su concentración en sangre aumenta durante una infección de origen **bacteriano**, especialmente en la sepsis severa y choque séptico. Cuando se produce dicha infección bacteriana, se secretan citoquinas inflamatorias y las vías de señalización estimulan la transcripción de la PCT, normalmente durante 3 a 6 horas. Si el patógeno no se contiene y

La infección se propaga, aumenta la PCT sérica durante otras 12 a 24 horas. También puede aumentar en pancreatitis aguda, infecciones respiratorias y/o neumonías.

2.13 Hierro

La mayor parte del hierro se absorbe como ion ferroso (Fe^{2+}) en el duodeno y yeyuno superior, mientras que la forma trivalente (Fe^{3+}) y el Fe^{2+} unido al grupo hemo necesita vitamina C para su reducción. Posteriormente, el ion ferroso es reducido a ion férrico (por la ceruloplasmina), pasa al plasma y se une a la transferrina. El hierro sérico está ligado casi por completo a la transferrina.

La determinación del hierro sirve para el diagnóstico y control de anemias (ferropénicas, megaloblásticas, hemolíticas...), hemoglobinopatías, hemocromatosis y nefropatías crónicas, así como para enfermedades de la médula ósea.

2.14 Ferritina

La ferritina es la proteína de depósito de hierro, de manera que su concentración sérica se encuentra en equilibrio con el hierro almacenado en el organismo. Su determinación se requiere en el diagnóstico del metabolismo férrico, el control de los tratamientos con hierro, las reservas férricas en pacientes de riesgo, así como en el diagnóstico diferencial de las anemias (anemia ferropénica vs otras anemias hipocromas como las crónicas por infecciones o tumores, sideroblástica o talasemia). Además, permite comprobar la deficiencia latente, así como la sobrecarga de hierro.

Asimismo, la ferritina es un reactante de fase aguda moderado, por lo que sus niveles séricos se elevan entre 2 a 5 veces en estados inflamatorios. Ésta es liberada principalmente por macrófagos e histiocitos bajo el estímulo de citoquinas inflamatorias, especialmente IL-1, IL-6, IL-18 y TNF (factor de necrosis tumoral). Principalmente, esta proteína aumenta debido a que actúa en la defensa celular contra el estrés oxidativo y la inflamación.

2.15 Troponina T (TnT)

La TnT de la musculatura cardíaca es un marcador específico del miocardio con alta sensibilidad frente al daño cardíaco. Las troponinas se liberan durante el proceso de necrosis de miocitos, siendo específicas de todas las enfermedades cardíacas y no solo del infarto miocárdico. Por tanto, para distinguir entre aumentos agudos y crónicos de cTnT, la definición universal del infarto agudo de miocardio requiere un análisis seriado para observar si hay aumento o caída. La interpretación de estos resultados tiene que englobar la clínica incluyendo síntomas isquémicos y cambios electrocardiográficos. Se pueden integrar estos resultados con otras pruebas diagnósticas como CK-MB, NT-proBNP y PCR.

En pacientes estables clínicamente, pueden detectarse aumentos crónicos de cTnT por insuficiencia cardíaca, insuficiencia renal, sepsis y diabetes.

2.16 Pro-BNP

Los péptidos natriuréticos participan en el control de la función del sistema cardiovascular. Uno de ellos es el péptido natriurético de tipo B (BNP), cuya determinación cuantitativa más extendida es la del fragmento N-terminal del propéptido-natriurético tipo B. Su estudio es significativo en el manejo de la insuficiencia cardiaca, desde el diagnóstico hasta la monitorización, de modo que valores elevados indican desenlaces adversos y riesgo mayor, así como mayor cardiotoxicidad. La disminución de la concentración de NT-proBNP durante el tratamiento de insuficiencia cardiaca crónica significa un desenlace clínico más favorable.

2.17 Iones

Los electrolitos están implicados en casi todas las funciones metabólicas del organismo. El sodio (Na^+) es el principal catión extracelular y mantiene la distribución de líquidos y la presión osmótica. El potasio (K^+) es el principal catión intracelular y es crítico para la actividad nerviosa y muscular. El cloruro (Cl^-) es un anión extracelular muy importante en el equilibrio hidroelectrolítico. Aumentan en deshidratación e insuficiencia renal; disminuyen por pérdida en vómitos, diarreas y deficiencias alimentarias.

En el **Anexo Y**, se han recogido las unidades de medida y los intervalos de referencia de las principales magnitudes bioquímicas en suero. Cabe señalar que los valores de referencia (VR) pueden variar en función de la población de estudio y es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios intervalos.

NOTA: Para la medición de los diferentes parámetros de la bioquímica en suero tenemos varios métodos como pueden ser la técnica elisa sandwich, la potenciometría, el test inmunturbidimétrico, test colorimétrico, test por radiación ultravioleta, espectrofotometría, test de espectroscopia, test enzimático in vitro... Cabe aclarar que cada laboratorio tiene sus propios equipos y, por lo tanto, el método de medición empleado para la cuantificación de las magnitudes bioquímicas puede variar.

3. BIBLIOGRAFÍA

1. Adagmar A, Rodriguez A, Franco C, Venacio I, Elizabete M, Rezende M, E. A. (2010). Recomendaciones de la Sociedad Brasileña de Patología Clínica Medicina Laboratorial para la extracción de sangre venosa, 16–26.
2. Deschka, M. (2010). La extracción de sangre en la práctica. 3rd edition.
3. Estudio, E. L., Frotis, D. E. L., & K, S. G. (n.d.). De Sangre Periférica, (3).
4. General, M. O. (2011). Uso Clínico de la Sangre, 381. Available from: http://www.who.int/bloodsafety/clinical_use/en/Manual_S.pdf
5. Hematolog, L. S. D. E. (2011). Guía laboratorio servicio de hematología y hemoterapia.
6. Hjnc, S. G. C., & No, A. D. D. (2014). Manual de toma de muestras scr laboratorio clínico, 1-39.
7. Humanas, C. (2009). Prácticas efectivas y conocimientos parciales: negociaciones en torno a la “hipótesis del colesterol” Effective practices and partial knowledge: Rebeca Ibáñez Martín. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 1-26.
8. Organización Mundial de la Salud, (O.M.S.). (2014). Importante: Recuerde que las muestras sólo deben ser tomadas a pacientes sintomáticos, con sospecha de infección por agentes altamente patógenos como el Ébola. La detección viral sólo es posible a partir del primer día de inicio de síntomas., 1, 1-8.
9. Perif, D. E. S. D. E. V. (2011). Extracción de sangre de vena periférica 1.-objetivo, 1-7.
10. Salud, M. de, & PUBLICA, S. (2002). Guía De Toma De Muestra, Para Análisis Toxicológicos Conservación Y Transporte, 1–47.

CAPÍTULO 3. MAGNITUDES BIOQUÍMICAS EN ORINA

Guillermo Velasco de Cos ¹

¹ Residente de Análisis Clínicos, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander.

1. INTRODUCCIÓN

Las determinaciones bioquímicas en orina son pruebas frecuentes, no obstante, su interpretación desde el laboratorio clínico es compleja. La mayoría de ellas aportan información solamente cuando se acompañan de otros parámetros que permitan realizar los cálculos más adecuados para enfocar el diagnóstico del paciente. Muchos de estos resultados permiten orientar al clínico hacia un diagnóstico y el buen uso e interpretación de estas pruebas pueden dar un valor añadido al laboratorio.

En este capítulo trataremos las pruebas más empleadas y algunos cálculos clave para su correcta interpretación.

2. MAGNITUDES BIOQUÍMICAS EN ORINA MÁS COMUNES EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS

2.1 Peso específico y osmolalidad (VR: 1016-1022; 500-850mOsm/kg)

Van muy unidos, son medidas de concentración, pero tienen distintos matices. El peso específico es un equivalente de la densidad y la osmolalidad refleja el número de partículas de soluto por unidad de disolución. Las moléculas de gran tamaño como la glucosa, elevan más la densidad que las pequeñas, por ello en estos casos, es preferible la osmolalidad.

- El peso específico se puede medir a través de tiras reactivas.
- La osmolalidad se determina por el método del descenso crioscópico.

2.2 pH (VR: 4,6-8)

El pH para su regulación depende del aparato respiratorio y del aparato urinario. El ajuste se hace fundamentalmente en el túbulo proximal, donde se realiza la regulación del bicarbonato y los iones amonio para mantener el pH plasmático en rango.

Orinas ácidas: se produce en las dietas ricas en proteínas, generalmente son reflejo de la acidosis del organismo, salvo dos excepciones:

- Alcalosis hipopotasémica, como la producida por vómitos.
- Diuréticos.

Orinas alcalinas: aparece en dietas ricas en cítricos, y puede deberse a fallos renales, también a situaciones de alcalosis en el organismo o infecciones por algunos microorganismos.

El riñón puede llegar hasta un pH de 7,8; valores más elevados pueden deberse a la pérdida de amonio por evaporación o al metabolismo bacteriano post-recolección de la muestra.

La determinación se realiza fundamentalmente con tiras reactivas usando colorantes como azul de bromotimol o rojo de metilo. Otros métodos son el pH-metro o la titulación.

2.3 Electrolitos

Los iones en el organismo se controlan gracias a la acción del riñón, se regulan sobre todo a nivel de la rama ascendente del asa de Henle y del túbulo contorneado distal. El asa de Henle es permeable al agua en su parte descendente, el resto del conducto es impermeable, a excepción de los túbulos colectores donde por acción de la hormona antidiurética pueden crearse canales que favorezcan el trasvase al interior de los conductos de agua para que no se excrete.

❖ **Sodio:** se reabsorbe la mayor parte a nivel del túbulo proximal y, más adelante, se hace una regulación a nivel del asa y la regulación final en el túbulo distal (aldosterona). Pueden darse dos situaciones:

▪ Hiponatremia:

1. Causada por sobrehidratación, con descenso de uremia y del hematocrito y sodio en orina disminuido.
2. Causada por diuréticos, con sodios en orina elevados, se distingue de la sobrehidratación en que presenta hipokalemia.
3. Provocada por SiADH, el exceso de hormona antidiurética provoca hemodilución y elevadas concentraciones en orina.
4. Causada por déficit de aldosterona, cursa con hiperkalemia y acidosis. En orina hay concentración de sodio, pero inferior al SiADH.

▪ Hipernatremia: se produce por deshidratación, diabetes insípida (cursa al contrario que SiADH) e hiperaldosteronismo.

El valor del sodio en orina se puede emplear para valorar el volumen circulante, valores de menos de 20 mEq/L nos hacen sospechar que el volumen sanguíneo es insuficiente.

❖ **Potasio:** muy relacionado con el sodio, salvo en el caso de usar diuréticos no ahorradores de potasio (espironolactona y eplerenona). Se intercambia con Na^+ y con los H^+ .

En una hipopotasemia, un valor de K⁺ urinario <15 mEq/L orientan hacia una pérdida extrarrenal; mientras que K⁺ urinario >15 mEq/L orienta hacia pérdidas por la función compensadora o disfunción del riñón, como la diuresis osmótica o la hipomagnesemia.

- ❖ **Cloro:** se utiliza para determinar el origen de las acidosis y alcalosis, la cantidad de cloro urinario se correlaciona con la pérdida de protones a ese nivel.

En una alcalosis valores de Cl⁻ >40 mEq/L orientan hacia trastornos en la liberación de corticoides o a tratamientos diuréticos y valores <25 mEq/L orientan hacia pérdida extrarrenal (Vómitos).

Cálculos electrolíticos para evaluar la función renal:

El gradiente transtubular de potasio (TTKG): $\frac{K u \times Osm p}{K p \times Osm u}$

u: orina; p: plasma; Osm: osmolalidad

se emplea para valorar la actividad mineralocorticoide a nivel renal en los casos de hipopotasemia en los que el potasio urinario no concuerda con la clínica del paciente.

- Valores <4 corresponden a ausencia de actividad mineralocorticoide.
- Valores >7 indican presencia de actividad mineralocorticoide. Es decir, diferencia si la hipopotasemia se debe o no a la aldosterona.
- En los casos de hiperpotasemia, valores >10 orientan hacia causa extrarrenal y valores <6 hacia IRC, IRA o hipoaldosteronismo.

Excreción fraccional de sodio: $\frac{Na u \times Cr s}{Na s \times Cr u} \times 100$ u: orina; p: plasma; Cr: creatinina

se emplea para valorar el origen de la enfermedad renal.

- Valores <1% orientan hacia problemas prerrenales, obstructivos o glomerulonefritis.
- Valores >3% orientan hacia el uso de diuréticos, necrosis tubular aguda o glucosuria.

Los iones en orina se determinan igual que los de suero por potenciometría, en muchos laboratorios se trabaja en un electrodo distinto ya que los componentes de la orina suelen degradar los electrodos con mayor rapidez.

2.4 Creatinina

La creatinina es el marcador de función renal más utilizado, presenta la ventaja de producirse en el propio organismo con lo que se evita la administración al paciente, la principal desventaja es que se excreta en pequeñas cantidades en orina.

La creatinina se elimina mayoritariamente en la filtración glomerular (95%), una pequeña proporción se excreta por el túbulo distal, pero esta no es significativa.

Se emplean fórmulas para calcular su aclaramiento, que es indicador de función renal. La fórmula inicial emplea la creatinina en orina de 24 horas y la correlaciona con la creatinina sérica, el valor de la creatinina sérica es inversamente proporcional al aclaramiento. Dicha fórmula para calcular el aclaramiento de creatinina es la siguiente:

$$Cl_{Cr} \text{ (mL/min)} = \frac{[uri-Cr]}{[pla-Cr]} \times \frac{V \text{ orina (mL/24 h)}}{1.440 \text{ min/24 h}}$$

Uri: urinaria; Pla: plasmática; Cr: creatinina

Otras fórmulas que evitan la utilización de la orina de 24 horas son:

- *Cockroft-Gault*: Usa peso, edad, sexo y creatinina plasmática.
- *MDRD y MDRD 4*: La primera utiliza valores como peso y talla, se creó la MDRD4 que necesita únicamente raza, edad sexo y creatinina plasmática.
- *Schwartz*: Se emplea para calcular el aclaramiento en menores de 18 años.

Normalmente es necesaria una disminución de un 50% del filtrado glomerular para que la creatinina sérica se eleve por encima de los intervalos de referencia. Los valores de creatinina dentro del intervalo de referencia no descartan un fallo en la filtración glomerular.

La creatinina se determina tradicionalmente por el método de *Jaffé*, que utiliza una reacción con picrato para generar un compuesto rojo medible por colorimetría, su determinación en plasma presenta multitud de interferencias con compuestos sanguíneos. En la determinación en orina no aparece este problema. Otra opción, la más empleada actualmente, es la utilización de enzimas para aumentar la especificidad de la reacción, un ejemplo es la utilización de creatininasas y peroxidasa para determinar finalmente peróxido de hidrógeno por colorimetría.

2.5 Urea

La urea complementa la información obtenida por la creatina, indica fundamentalmente el flujo de agua que llega al túbulo proximal y la concentración con la que llega.

La urea es un producto del metabolismo de las proteínas, que elimina por vía renal, se filtra aproximadamente un 90% por el glomérulo y se reabsorbe un 50% acompañando al agua en el túbulo proximal, su eliminación depende mucho del flujo de agua que atraviesa el riñón. De forma que, en casos de insuficiencia de origen prerrenal, al reabsorberse en gran

cantidad por el menor flujo de agua, aumentará en suero, mientras que el valor de la creatinina se mantendría estable. También aumenta en casos de obstrucción postrenal.

La determinación de la urea se realiza hidrolizándola primero con ureasa para obtener amonio y después se determina este, generalmente por espectrofotometría. En las muestras de orina se debe determinar rápidamente o refrigerar, ya que se degrada por la acción bacteriana.

Tanto la urea como la creatinina se encuentran mucho más elevadas en orina que en suero y se pueden emplear para determinar la extravasación de orina en otros líquidos biológicos.

2.6 Proteínas

Las proteínas en orina no deben aparecer en condiciones fisiológicas, y si lo hacen deben estar en concentraciones mínimas (Tabla 5). Las de alto peso molecular no llegan a filtrarse, y las que si filtran son reabsorbidas a través de transporte activo en los túbulos (Figura 3).

	Orina 24h	Micción aislada/creatinina
Normal	<30 mg/dL	<30 mg/dL
Microalbuminuria	30-299 mg/dL	30-299 mg/dL
Proteinuria	>300 mg/dL	>300 mg/dL

Tabla 5. Puntos de corte de las proteínas en distintas situaciones de proteinuria. Elaboración propia.

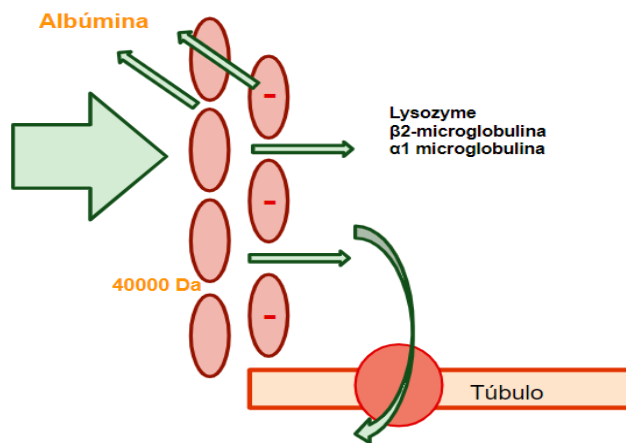


Figura 3. Filtración de proteínas por tamaño y carga en el glomérulo renal. Elaboración propia.

La proteína mayoritaria es la uromodulina o proteína de Tamm-Horsfall, que se desprende de los túbulos con el paso de la orina, que da lugar a los cilindros hialinos.

Tipos de proteinuria según el origen:

- **Glomerular:** Se produce eliminación de proteínas de un peso molecular más elevado, como la albúmina. Es la que se produce en la nefropatía diabética. Puede ser selectiva, cuando solamente está afectada la barrera eléctrica de la membrana y separa por tamaño, pero no por carga, predomina la albuminuria. Puede ser no selectiva, se deteriora tanto la carga como la barrera física, además de albúmina, aparecen proteínas de tamaño mucho mayor.
- **Tubular:** Se debe a la incapacidad del transporte activo del túbulo para reabsorber las proteínas que han filtrado, bien por una saturación de su capacidad o por un daño como toxicidad, por ejemplo, con metales pesados.

***Microalbuminuria:** Se denomina de esta forma a la pérdida de pequeñas cantidades de albúmina en orina, hasta 300mg/día. Se utiliza como marcador de riesgo asociado al progreso de nefropatía diabética y a daño cardiovascular.

2.7 Amilasa

Su determinación en orina es muy útil a la hora de descartar una macroamilasemia, es decir, falsas elevaciones en las amilasas séricas como consecuencia de la unión de inmunocomplejos que alteran el resultado. En los casos en los que el resultado de amilasa no concuerde con la clínica debemos sospechar y realizar la determinación en orina, los inmunocomplejos de macroamilasa no son capaces de atravesar el glomérulo por lo que los resultados elevados de amilasa en orina confirman que el resultado en suero es correcto.

La determinación se realiza por colorimetría, generalmente midiendo la absorbancia de algún sustrato artificial capaz de ser metabolizado por la enzima.

3. BIBLIOGRAFÍA

1. Prieto Valtueña J, Balcells., Yuste Ara J. Balcells la clínica y el laboratorio. Amsterdam: Elsevier Masson; 2019.
2. Suárez Pita D. Manual de diagnóstico y terapéutica médica. 8th ed. Madrid: MSD; 2016.
3. Henry J, Aguilar Benitez J. Henry laboratorio en el diagnóstico clínico. Madrid: Marbán; 2010.
4. González A, Alegre E. Principios de bioquímica clínica y patología molecular. Barcelona: Elsevier; 2014.

CAPÍTULO 4. URIANÁLISIS: SISTEMÁTICO Y SEDIMENTO

María Fuensanta López Marín ¹

¹ Residente de Análisis Clínicos, Hospital General Universitario de Albacete, Albacete.

1. INTRODUCCIÓN

El estudio de la orina actual se centra en la combinación de las tiras reactivas y el sedimento urinario al microscopio de campo claro o contraste de fases, o bien automatizado. Es importante, antes de iniciar el estudio, que la orina esté recogida en el recipiente adecuado: contenedor y tubos amarillos, sin ácido bórico. El análisis debe hacerse entre 2 – 3 horas desde la recogida, ya que los elementos de la orina están expuestos a una variedad de factores como pH, temperatura, flora bacteriana, etc, que pueden afectar sus características y artefactar la muestra: sobrecrecimiento bacteriano, ausencia de leucocitos por lisis, hematíes degenerados y espiculados, fosfatos amorfos... Con las tiras reactivas podemos hacernos una idea inicial de lo que podemos encontrar en el sedimento, y lo que podría estar ausente. Por ejemplo, con un pH de 5.0, podríamos encontrar cristales de ácido úrico, y con una densidad baja podríamos ver escasos leucocitos y mucho debris celular por su lisis, que a ojos inexpertos podría confundirse con flora bacteriana o incluso bacteriuria.

En resumen, el estudio completo de la orina se centra en tres partes: sistemático, sedimento y determinaciones bioquímicas. De ellas, explicaremos en este tema las dos primeras, ya que la última se ha explicado en el tema anterior.

2. ANÁLISIS SISTEMÁTICO DE LA ORINA

Se trata del primer paso para hacer una identificación más superficial de la información que podemos obtener de este espécimen. Esta prueba en un principio se realizaba manualmente con tiras de reacción, mediante identificación visual por comparativa de color con el muestrario ofertado por la empresa suministradora de dichas tiras.

Su manejo debe ser cuidadoso, ya que se trata de tiras de reacción cuyos resultados se visualizan por cambio de color, de tal modo que deben mantenerse en oscuridad para que la luz solar no dañe su sensibilidad. El uso de las tiras de reacción puede ser manual, semiautomático (un equipo se encarga de la lectura de resultados) o automático (el equipo distribuye la muestra en la tira y lee los resultados).

Los pasos adecuados para el uso de las tiras de reacción de forma manual son:

1º. Introduzca la tira en la orina durante unos pocos segundos.

2º. Coloque la tira de lado, y haga contacto con ella sobre un papel para eliminar el exceso de orina.

3º. Espere un minuto y posteriormente compare los colores de cada uno de los parámetros con el patrón de colores de referencia proporcionados por la casa comercial.

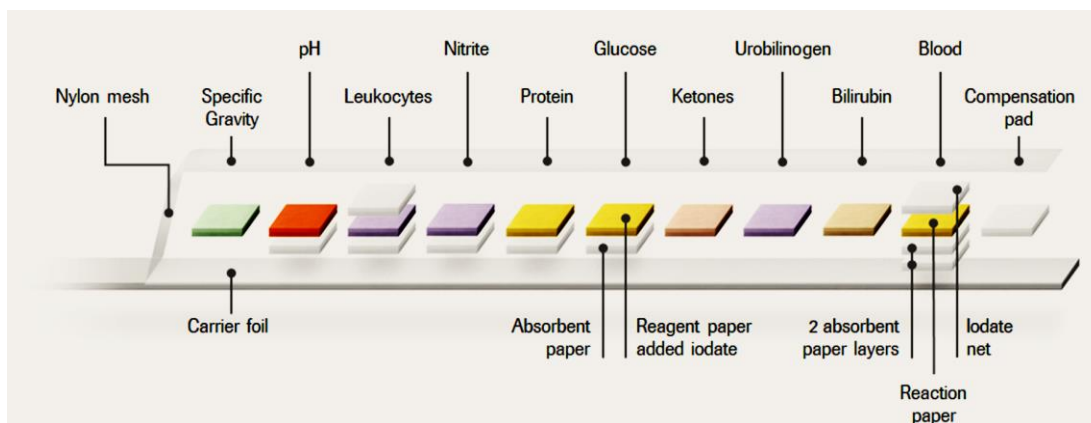


Figura 1. Resumen y estructura de la tira reactiva. Fuente: Roche Diagnostics

Las tiras de reacción ofrecen los siguientes parámetros:

- ❖ **Densidad:** se estima mediante una reacción de complejación seguida de una reacción ácido-base en presencia de un indicador. Importante en la sospecha de lisis celular.
- ❖ **pH:** reacción ácido-base en presencia de indicadores que reaccionan específicamente con protones. Este parámetro nos da información de la actividad metabólica del paciente, y nos permite justificar la presencia de distintos tipos de cristalurias o incluso la formación de cálculos. Podemos encontrarnos con orinas ácidas, neutras o alcalinas.
- ❖ **Leucocitos:** reacción colorimétrica en presencia de esterasas de granulocitos. La presencia de leucocitos en orina puede deberse a una contaminación vaginal por una mala recogida de la muestra, vaginitis o bien por un proceso inflamatorio y/o infeccioso. Sin embargo, una desventaja es que un resultado negativo no puede descartar la presencia de leucocitos, puesto que los linfocitos carecen de esterasa.
- ❖ **Hematías:** reacción redox con cambio de color. Una hematuria puede deberse a procesos fisiológicos como menstruación/contaminación vaginal, o bien un sangrado a nivel del riñón o vías urinarias. Es importante la visualización al microscopio de las hematurias fundamentalmente para la evaluación de las dismorfias. Además la tira reactiva no permite la diferenciación entre hemoglobina/mioglobina.
- ❖ **Proteínas:** detección basada en el principio de error proteico. Es una prueba muy sensible a la albúmina, por lo que resultados altamente positivos pueden deberse a albuminurias. También marca la posibilidad de encontrarnos con cilindurias o mucina.
- ❖ **Nitritos:** detección basada en el principio del ensayo de Griess. Un resultado positivo suele ser indicador de bacteriuria, aunque puede haber falsos positivos en situaciones

de sobrecrecimiento bacteriano como una contaminación fecal, derivación ileal/vejiga intestinal, o una mala recogida de la muestra. Un resultado negativo puede indicar ausencia de bacteriuria o un falso negativo por presencia de bacterias incapaces de reducir nitratos a nitritos, vitamina C, urobilinógeno alto o un pH inferior a 6.

- ❖ **Glucosa:** reacción específica de glucosa oxidasa/peroxidasa. La glucosuria nos permite sospechar si el individuo padece diabetes mellitus, aunque también puede deberse a un déficit de síntesis del transportador de glucosa a nivel del túbulo contorneado proximal en un pequeño porcentaje de pacientes.
- ❖ **Bilirrubina:** unión de la bilirrubina a una sal de diazonio con cambio de color. Es un indicador de patología hepática u obstrucción biliar.
- ❖ **Urobilinógeno:** reacción específica con una sal de diazonio con cambio de color.
- ❖ **Cuerpos cetónicos:** se basa en el principio de la prueba de Legal. La presencia de cetonuria está relacionada con alteraciones en el metabolismo de los ácidos grasos y los glúcidos. Los pacientes con ayuno prolongado, fiebre, vómitos, diabetes mellitus I, algunos errores innatos del metabolismo, síndrome de Fanconi y dietas ricas en proteínas pueden cursar con cetonuria. De los tres cuerpos cetónicos —ácido hidroxibutírico (78%), ácido acetoacético (20%) y acetona (2%)—, solamente son detectados por la tira el ácido acetoacético y la acetona. Es útil para control de pacientes diabéticos descompensados.

3. SEDIMENTO URINARIO

Si bien existen actualmente equipos con un módulo de lectura de tira de reacción acoplado a otro de visualizado de la orina con obtención de imágenes, aún no es posible que sustituyan completamente al microscopio de contraste de fases y, por tanto, este último sigue siendo el gold estándar.

El estudio del sedimento urinario no se basa únicamente en distinguir elementos en orina, sino que se trata de un estudio preciso en su conjunto, pudiendo establecer un juicio diagnóstico que nos permita orientar al clínico en caso de que sea necesario, bien por una consulta del mismo o por procesos agudos que requieran evaluación rápida y/o ingreso hospitalario del paciente. Sin embargo, para poder entender el conjunto, hay que revisar cada una de las partes.

3.1 Células epiteliales

Las células epiteliales constituyen una barrera de revestimiento en el tracto urinario, así como en otros órganos y estructuras. Se encuentran firmemente unidas entre sí gracias a adhesiones especializadas. En condiciones fisiológicas, se produce descamación de estas células cuando cumplen su ciclo de vida media, siendo renovado el epitelio. Así, es normal

encontrar escasas células epiteliales en orina. En el tracto urinario debemos distinguir tres tipos de epitelio de menor a mayor tamaño:

- ❖ **Epitelio tubular renal**: se encuentra recubriendo los túbulos renales. Sus células poseen un núcleo circular que ocupa aproximadamente dos tercios del citoplasma. Su forma es cúbica o cilíndrica, aunque tras descamación, suele observarse redondeada u ovalada (figura 1 anexo Z). Las que proceden del túbulo contorneado proximal presentan borde en cepillo, el cual puede intuirse al microscopio de contraste de fases. Su presencia suele ser patológica (infecciones, glomerulopatías, necrosis tubular...).
- ❖ **Epitelio transicional**: aparece en cálices renales, pelvis renal, uréteres, vejiga y uretra. Por lo general poseen uno o dos núcleos y formas muy variadas por tratarse de un epitelio pseudoestratificado, con varias capas. Las células basales suelen tener una forma poligonal, las de capas superficiales más ovaladas y de tamaños variados (figura 2 anexo Z). Su presencia puede deberse a procesos infecciosos/inflamatorios, así como procesos degenerativos o tumorales (carcinoma urotelial). Cuando se observan en empalizada, puede deberse a maniobras agresivas como un sondaje vesical.
- ❖ **Epitelio escamoso**: lo distinguimos en el trígono y uretra. También en estructuras externas al tracto urinario. Se trata de las células epiteliales de mayor, poligonales, con un solo núcleo que se encuentra generalmente en posición central y de un tamaño que ocupa aproximadamente el 10% del citoplasma (figura 3 anexo Z). Su presencia está asociada a contaminación y mala recogida de la muestra, descamación fisiológica o bien en casos de uretritis y cervicotrigoitis.

3.2 Leucocitos

Son células redondeadas de entre 8 – 15 μm con núcleo de morfología y tamaño variados en función del tipo de leucocito (figura 3 anexo Z). Al microscopio de contraste de fases pueden observarse peculiaridades como la presencia de “granulación en movimiento” que implica que están activos en su labor fagocítica. Suelen romperse cuando la densidad de la orina es baja (efectos osmóticos) y también por la fagocitosis. Suelen aparecer en contaminación vaginal o bien en procesos inflamatorios/infecciosos en los cuales se liberan sustancias proinflamatorias que sirven de señal a los leucocitos que llegan a la zona por diapedesis.

3.3 Hematíes

Son células no nucleadas con forma de disco bicóncavo y un tamaño entre 4 – 7 μm . Podemos encontrar las mismas morfologías citadas en el capítulo de hematología de este libro (capítulo 6) aunque, al igual que otras células en orina, pueden sufrir alteraciones por efectos osmóticos. La presencia de hematíes en orina puede deberse a una contaminación

por menstruación o un sangrado activo procedente del riñón o vías urinarias. Para esclarecer el diagnóstico, es importante hacer una distinción de si al microscopio visualizamos hematíes isomórficos o dismórficos. Los primeros hacen referencia a hematíes normales o deformados por el efecto osmótico de la orina, mientras que los dismórficos presentan protrusiones añadidas debido al paso por las diferentes estructuras que componen el glomérulo (endotelio, membrana basal y podocitos). Actualmente, en el diagnóstico de hematuria glomerular adquiere más peso la presencia de un valor superior al 5% de acantocitos (eritrocitos anulares con presencia de una o más protrusiones). Las hematurias isomórficas sugieren un sangrado por contaminación vaginal o procedente del tracto urinario, mientras que las dismórficas son típicas de sangrado glomerular (figura 4 anexo Z).

3.4 Cilindros urinarios

Son estructuras que tienen como componente principal la proteína Tamm-Horsfall, la cual es sintetizada de forma fisiológica a nivel tubular. La presencia de proteinuria asociada a cambios en el pH y punto isoeléctrico permiten la coagulación o agregación de las proteínas para formar la matriz del cilindro, en el que quedan atrapados diferentes elementos que distinguen al tipo de cilindro y su posible significación clínica.

- ❖ **Cilindros hialinos**: son aquellos que están compuestos por proteína de Tamm-Horsfall únicamente. Pueden aparecer de forma fisiológica o patológica a consecuencia de cualquier desorden renal.
- ❖ **Cilindros granulosos**: están compuestos por granulación fina de origen mineral o celular. Su visualización puede darse en individuos sanos o bien en situaciones patológicas como una necrosis tubular aguda. Si el cilindro contiene una granulación escasa y/o se encuentra distribuida asimétricamente, con regiones casi transparentes, se denomina hialino-granuloso.
- ❖ **Cilindros epiteliales**: suelen estar compuestos de células de epitelio tubular renal. Indican un daño renal agudo (glomerulopatías, necrosis tubular aguda).
- ❖ **Cilindros leucocitarios**: son aquellos que contienen leucocitos en su interior. Suelen aparecer en infecciones o procesos inflamatorios, aunque también podrían aparecer en patología renal.

Los cilindros epiteliales y leucocitarios son en muchas ocasiones, difíciles de discriminar, y en esos casos se puede hablar de cilindros celulares.

- ❖ **Cilindros eritrocitarios**: están compuestos por hematíes y poseen una coloración pardo-rojiza por la hemoglobina (figura 5 anexo Z). Su presencia suele indicar glomerulonefritis, y más si se observan junto con hematíes dismórficos.

- ❖ **Cilindros lipídicos:** están formados por partículas lipídicas que se visualizan al microscopio de contraste de fases como gránulos más redondeados y ligeramente refringentes. Si se trata de ésteres de colesterol, podríamos observar un patrón en cruz de Malta al usar polarización. Estos cilindros suelen estar asociados a nefropatías, glomerulonefritis o síndrome nefrótico.
- ❖ **Cilindros céreos:** no se conoce su origen y formación. Son grandes, de diámetro variado, gruesos y a veces con una ligera coloración amarillenta, mate, de apariencia frágil y sin inclusiones (figura 6 anexo Z). Indican enfermedad glomerular-tubular severa y crónica.
- ❖ **Cilindros bacterianos:** contienen bacterias y, en ocasiones, leucocitos. Para distinguirlos de los cilindros granulosos, hay que visualizar el sedimento en conjunto y observar si existen bacterias libres. En caso de dudas, también se puede recurrir a una tinción de Gram. Aparecen en procesos infecciosos o pielonefritis.

3.5 Cristalurias

Las cristalurias surgen a partir de condiciones propicias para la precipitación como pH, fuerza iónica, concentración de cada componente que forma el cristal, temperatura, producto de formación, etc. Cada uno de los cristales observados poseen formas geométricas compatibles con ciertos sistemas de referencia. Podemos encontrar cristalurias formadas por elementos minerales presentes en el organismo, solubles o no en orina, o bien ser a consecuencia de la ingestión de ciertos medicamentos.

El pH es el principal parámetro que nos sirve para hacer una clasificación de las cristalurias. Así, vamos a hablar de cristales presentes en orinas ácidas, neutras y alcalinas. Esta clasificación nos permite descartar en caso de duda entre cristales que pueden tener una morfología similar por cristalizar en el mismo sistema geométrico.

3.5.1. Cristalurias en orinas ácidas

- ❖ **Oxalato de calcio monohidratado (wewellita):** se forma a un pH entre 5.2-6.4 y presenta una morfología típica en forma de “ocho” o “reloj de arena”, es decir, dos regiones extremas en forma circular con una región central muy estrecha en la que hay una depresión hacia el interior, y de aspecto estriado al microscopio de contraste de fases. En otras ocasiones se observa como discos bicóncavos ovalados, que no deben confundirse con hematíes (figura 7 anexo Z). Suele asociarse con hiperoxaluria.
- ❖ **Oxalato de calcio dihidratado (weddelita):** puede aparecer en orinas con pH entre 5.2-6.7 y la morfología más común es la de una bipirámide tetragonal que vista desde arriba es como un “cuadrado” (base tetragonal de la bipirámide) tachado con una “X” (aristas de la bipirámide) (figura 8 anexo Z). Suele asociarse con hipercalcemia.
- ❖ **Ácido úrico:** suele formarse en orinas con un pH entre 4.5-5.5 y es muy pleomórfico, cristalizando con múltiples formas. La más común es la rómbica (figura 9 anexo Z), así

como en forma de agregados granulares. Esta última recibe el nombre de uratos amorfos, los cuales pueden aparecer en orinas algo menos ácidas con pH de 6 – 6.5 y suele dar pista que macroscópicamente el sedimento es rosado. Otras formas son: roseta, pesa, barril, bastón. Los cristales de ácido úrico son muy birrefringentes y policromáticos. Una elevada presencia podría indicar una litiasis úrica.

3.5.2. Cristalurias en orinas neutras – alcalinas

- ❖ **Fosfato amónico – magnésico**: se forma a un pH entre 7-9 y también es pleomórfico. La morfología más común es “en tapa de ataúd” (figura 10 anexo Z) y siempre indica infección por microorganismos ureasa positivos, ya que esta enzima cataliza la reacción de conversión de la urea en amonio y bicarbonato. Es importante informar de su presencia porque esas infecciones pueden llegar a ser crónicas e incluso dar lugar a la formación de cálculos.
- ❖ **Fosfatos de calcio**:
 - **Fosfatos amorfos** (pH >7): se observan como los uratos amorfos pero sin presentar birrefringencia y de color blanco-grisáceo. El sedimento en el tubo, tras centrifugación, tiene coloración blanquecina. No tienen significación clínica.
 - **Fosfato octocálcico**: suelen visualizarse como un cristal fino en forma de lámina generalmente grande, con bordes bien definidos y abruptos, granulación muy fina y dispersa, y sin birrefringencia (figura 11 anexo Z). Suele ser raro y no tiene significación clínica.
 - **Fosfato ácido de calcio**: aparece a un pH entre 6-7.3. Son birrefringentes, y su forma más característica es en agujas aisladas o formando agregados. Sin embargo, pueden adquirir otras morfologías como roseta, prismas o estrellas. Se puede encontrar en pacientes sanos o con patología de origen metabólico, como hipercalcemia y/o hiperfosfaturia, y del tracto urinario.
- ❖ **Biurato amónico**: Según el pH y su origen, distinguimos dos tipos de morfología:
 - **Tipo I**: se forman a un pH entre 6.4-7.5 y se distingue la variedad de gránulo radial (esferas de color marrón-verdoso con estriaciones radiales) y la de esferolito espiculado. Se relaciona con hiperamoniuria de causa metabólica.
 - **Tipo II**: aparece a un pH entre 7.5-9.2 y se observan como esferolitos con prolongaciones más alargadas e irregulares. Se relaciona con hiperamoniuria secundaria a una infección por gérmenes ureolíticos, que puede conllevar a una litiasis.
- ❖ **Cistina** (pH 6-7.5): Su morfología más común es la de prismas hexagonales perfectos y transparentes (figura 12 anexo Z). No se deben confundir con ácido úrico, que también puede observarse como hexágonos, pero son irregulares. Son característicos de pacientes con cistinuria.
- ❖ **Colesterol**: aparece en orinas de pH entre 6-8. Se observa como láminas rectangulares o cuasi-rectangulares con bordes bien definidos y a menudo escalonadas unas encima

de otras. Predominan en la quiluria e indican o bien una obstrucción abdominal o torácica del drenaje linfático, o la ruptura de vasos linfáticos de la pelvis renal.

3.6 Microorganismos

La presencia de microorganismos podría indicar contaminación por mala recolección de la muestra, pañal o vejiga intestinal, posibilidad de que haya pasado mucho tiempo desde su recogida y haya sobrecontaminación o que sea una bacteriuria. Así, es importante distinguir entre una bacteriuria falsa o real. Si observamos al microscopio una población bacteriana heterogénea, hablamos de una falsa bacteriuria (flora bacteriana, contaminación...) y si es homogénea o predomina ampliamente un tipo de morfología, podemos informar de una bacteriuria. Sin embargo, la confirmación final, la hará el cultivo microbiológico. El estudio del sedimento permite visualizar no solamente bacterias sino también levaduras y parásitos.

- ❖ **Bacterias y formas L:** las bacterias se observan en forma de cocos aislados o formando tétradas, sarcinas, etc, y bacilos aislados o formando cadenas. También podemos encontrar bacterias filamentosas, que son más alargadas, ocupando en ocasiones gran parte del campo de observación. Otro tipo de bacterias que hay que destacar son las formas L, las cuales son pared celular deficientes, lo cual las hace resistentes al tratamiento con β -lactámicos.
- ❖ **Levaduras:** se observan en forma esférica u ovalada con alguna gemación (figura 13 anexo Z). Es importante no confundirlas con esferocitos. En el sedimento también se pueden encontrar en conjunto con pseudohifas y pseudomicelio.
- ❖ **Parásitos:** podemos encontrar huevos de *Schistosoma haematobium*, trematodo colonizador de vasos sanguíneos próximos a la vejiga urinaria. Si hay contaminación anal, podríamos visualizar huevos de *Enterobius vermicularis*.
- ❖ **Protozoos:** podemos encontrar *Trichomonas*, que debido a sus flagelos podemos apreciar su movimiento, distinguiéndolo así de otras estructuras, o *Giardia lamblia*, indicador de contaminación fecal.

3.7 Espermatozoides

Hay gran controversia sobre si deben informarse o no en el estudio de orina debido a su falta de significación clínica (excepto en eyaculación retrógrada) y las implicaciones legales que puede conllevar. Su presencia, mayoritariamente, se debe a que puede permanecer en la uretra la última porción del eyaculado y salir así en la siguiente micción.

4. BIBLIOGRAFÍA

1. Cabezas Martínez, Ángeles; Pineda Tenor, Daniel; Ruiz Martín, G. et all. (2011). *El Laboratorio Clínico 3: Análisis de las Muestras de orina*. (LABCAM, Ed.).
2. Ruiz Belloda, Eliseo; López Martínez, B. (2008). Infección de vías urinarias. Detección por métodos rápidos de laboratorio. *Mex Patol Clin*, 55(4), 201–206.
3. Lozano Triana, C. J. (2016). Examen general de orina: una prueba útil en niños. *Revista de La Facultad de Medicina*, 64(1), 137–147.
4. Jiménez García, Juan Ángel; Ruiz Martínez, G. (2010). *El laboratorio clínico 2: Estudio de los elementos formes de la orina. Estandarización del sedimento urinario*. (LABCAM, Ed.).
5. Dalet Escribá, F. (2015). *Basic guide to urine sediment*. (Roche D. I. Ltd, Ed.).
6. King Strasinger, Susan; Schaub Di Lorenzo, M. (2008). *Urianalysis and body fluids* (5th ed.). F. A. Davis Company.

CAPÍTULO 5. COAGULACIÓN

Isabel María Portell Rigo ^{1*}

¹ Residente de Análisis Clínicos, Hospital de Poniente, Almería.

1. INTRODUCCIÓN

La coagulación o hemostasia secundaria se define como el conjunto de reacciones que suceden por la activación secuencial de distintas proteínas plasmáticas o factores de coagulación y que conducen a la formación de fibrina.

La capacidad hemostática in vivo es irreproducible en el laboratorio, por lo que se utilizan distintas pruebas de coagulación in vitro. Se utilizan de manera rutinaria pruebas globales que son: tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA) y la concentración de fibrinógeno. Estas tres determinaciones, junto con los niveles de Dímero D (DD) son básicas e imprescindibles en la cartera de servicios de un laboratorio de urgencias. Para todos los estudios se necesita muestra de sangre anticoagulada con citrato sódico.

Los coagulómetros automáticos actuales combinan diferente metodología para poder evaluar la capacidad hemostática in vitro artificialmente, utilizando la mayoría la combinación de métodos coagulométricos (mecánicos: turbidimetría, impedancia; foto-óptica), cromogénicos e inmunológicos principalmente.

A continuación, se describen las pruebas de coagulación básica:

2. TIEMPO DE PROTROMBINA (TP)

La prueba consiste en medir el tiempo de coagulación del plasma citratado tras la adición de tromboplastina tisular (factor tisular y fosfolípidos) e iones calcio. Evalúa la vía extrínseca y común de la coagulación que incluyen los siguientes factores: factor I (fibrinógeno), factor V, factor II, VII y X (los tres últimos vitamina K dependientes).

El TP puede expresarse en segundos, en porcentaje de actividad o en razón. El rango normal en segundos es de 11-13 s y en porcentaje de actividad entre 60- 120%. La sensibilidad del TP se ve afectada por el tipo de tromboplastina utilizada en el ensayo y por el instrumento, de manera que hay diferencias entre los laboratorios. Para corregir estas diferencias se desarrolló una razón, el índice internacional normalizado ($INR = TP \text{ del paciente en segundos} / TP \text{ normal medio estandarizado en segundos}$). Se considera un valor normal de INR en torno a 1 (0,8-1).

La utilidad clínica de la medición del tiempo de protrombina es normalmente para evaluar deficiencias de factores implicados en la vía extrínseca o común, presencia de inhibidores

frente a algún factor de dichas vías, valoración de hepatopatías graves y monitorizar pacientes bajo tratamiento con anticoagulantes antagonistas de la vitamina K.

Causas de prolongación del TP (↑):

- Déficit, disfunción o presencia de inhibidores de alguno de los factores I (fibrinógeno), II (protrombina), V, VII y/o X
- Hepatopatía
- Deficiencia de vitamina K
- Tratamiento con anticoagulantes orales antagonistas de la vitamina K
- Tratamiento con anticoagulantes orales directos, antitrombóticos (dabigatrán) y anti Xa (rivaroxabán, edoxabán, apixabán principalmente)
- Coagulación intravascular diseminada (CID)
- Tratamiento con heparina (dosis altas)

Causas de TP disminuido (↓):

- Uso de suplementos con vitamina K
- Estrógenos (medicamentos anticonceptivos)

3. TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ACTIVADA (TTPA)

La prueba consiste en medir el tiempo de coagulación del plasma citratado en presencia de tromboplastina parcial (fracción fosfolipídica de la tromboplastina), un activador (caolín, sílice o ácido elágico) e iones calcio. Evalúa los factores que intervienen en la vía intrínseca de la coagulación (XII, XI, IX y VIII) y la vía común (X, V, II). Por lo tanto, evalúa la actividad global de todos los factores de la coagulación excepto los factores VII y XIII.

Los valores de referencia de TTPA varían en función de la instrumentación, reactivos utilizados y cada laboratorio lo debe especificar. El resultado de TTPA se expresa en segundos y suele acompañarse de un cociente paciente/control para ayudar a la interpretación. El valor normal varía +/- entre 5-7 segundos en relación al plasma de control. En general se establece un valor de referencia entre 25-35 s y ratio 0,85-1,15.

El TTPA es útil clínicamente para evaluar posibles deficiencias heredadas o adquiridas de los factores de coagulación mencionados y en la monitorización de la terapia con heparina no fraccionada principalmente.

Causas de prolongación del TTPA (↑):

- Déficit de factores hereditarios: enfermedad de von Willebrand, Hemofilia A y B (déficit factor VIII y IX respectivamente), deficiencia de otros factores como XII y XI).

- Monitorización del efecto de la terapia con heparina no fraccionada (cuyo intervalo terapéutico está entre 1,5-2,5 veces el valor del control normal).
- Presencia de autoanticuerpos inespecíficos (ej: anticoagulante lúpico).
- Anticoagulación con antagonistas vitamina K (dosis elevadas).
- Coagulación intravascular diseminada (CID).
- Tratamiento con inhibidores directos de la trombina (ej: dabigatrán).
- Tratamiento con heparina de bajo peso molecular.
- Hepatopatía grave.
- Hipofibrinogenemia (<80 mg/dl).

Causas de TTPA disminuido (↓):

- Estados de hipercoagulabilidad.
- Extracciones sanguíneas difíciles (muestra coagulada, insuficiente...).

4. CONCENTRACIÓN DE FIBRINÓGENO

El fibrinógeno es una proteína plasmática que se sintetiza en el hígado y que en contacto con la trombina se convierte en fibrina formadora del coágulo. El método de medición más preciso es el coagulativo de Clauss (fibrinógeno directo) aunque el más utilizado se obtiene al formarse el coágulo cuando se mide el tiempo de protrombina por turbidimetría (fibrinógeno derivado).

El valor normal de concentración de fibrinógeno oscila entre 1,5-4,5 g/l (150-450 mg/dl).

Causas de aumento de la concentración de fibrinógeno (↑):

- Procesos infecciosos, inflamatorios (reactante de fase aguda).
- Cirugía, sepsis, cáncer, aterosclerosis (marcador de riesgo cardiovascular).
- Edad, masa corporal, embarazo, tabaquismo, estrés.

Causas de disminución de la concentración de fibrinógeno (↓):

- Hepatopatía severa.
- Traumatismo con sangrado crítico.
- Coagulación intravascular diseminada (CID).

5. DÍMERO D (DD)

La determinación del dímero D es una prueba global no específica y se utiliza principalmente para la evaluación de la fibrinólisis (degradación de la fibrina por acción de la plasmina) cuya presencia indica que ha habido un proceso de coagulación previo.

Puede medirse de forma semicuantitativa por inmunoensayos (ELISA, aglutinación, inmunoturbidimetría).

El punto de corte más comúnmente utilizado es de 500 ng/mL. Su concentración se encuentra significativamente elevada en los pacientes con enfermedad tromboembólica venosa (ETV).

La utilidad clínica principal para la determinación de dímero D es que tiene un valor predictivo negativo en el estudio de enfermedad tromboembólica venosa, valor pronóstico en tromboembolia pulmonar y valoración del riesgo de recurrencia tromboembólica tras el período de anticoagulación.

En otras situaciones diferentes a ETV, el DD puede encontrarse elevado (↑) en:

- Inflamación, infecciones.
- Infarto agudo de miocardio (IAM), insuficiencia cardíaca (IC).
- Coagulación intravascular diseminada (CID).
- Intervenciones quirúrgicas recientes, traumatismos.
- Hemorragias.
- Neoplasias.
- Sepsis.
- Hepatopatía.
- Embarazo.

Las pruebas de coagulación mencionadas son las más típicamente utilizadas en el laboratorio de urgencias. Es muy frecuente la consulta al laboratorio sobre la estabilidad de las muestras para estudios de coagulación y posibles ampliaciones. En la siguiente tabla (tabla 1) se especifican las estabilidades y condiciones de conservación para poder proporcionar un resultado correcto una vez centrifugada la muestra:

Prueba	Tiempo máximo estabilidad de la muestra	Condiciones de temperatura
Función plaquetaria	≤ 4 h	Temperatura ambiente
Tiempo de protrombina (TP) INR	≤ 24 h	Temperatura ambiente
Tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA)	≤ 4 h	Temperatura ambiente

	Si \geq a 4 h	Alicuotar plasma y congelar.
Muestras con heparina no fraccionada (monitorización)	\leq 1 h	Temperatura ambiente
Factores de coagulación (estabilidad heterogénea)	FV, FVIII : \leq 3 h Factores vitamina K dependientes: \leq 24 h	Temperatura ambiente
Fibrinógeno, proteína C, actividad antitrombina	\leq 7 días	Temperatura ambiente
Proteína S	\leq 8 h	
Dímero D	Preferiblemente 1h. Pero es estable de 4-24h	

Tabla 1: Condiciones de estabilidad y conservación de la muestra para poder obtener un resultado válido.
Adaptada de Arellano Rodrigo E, Merino González A.. Hemostasia práctica en el laboratorio clínico. Ed. Comité de comunicación de la Sociedad Española de Medicina de Laboratorio. Barcelona. 2018.

En caso de no poder realizar las determinaciones en el tiempo de estabilidad especificado, se aconseja alicuotar la muestra y congelar.

En el anexo Y se expone la interpretación de las pruebas básicas de hemostasia y coagulación en formato tabla, con las pruebas básicas de hemostasia y coagulación presentadas en el capítulo, rangos de referencia, unidades de medida y las patologías y factores principales relacionados con la obtención de resultados alterados.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Pérez MR. Realización de técnicas de valoración de la hemostasia y la coagulación. En: Mérida FJ, Moreno EE. Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico. Ed. Médica Panamericana. Madrid. 2015. p. 1081-1104.
2. Arellano Rodrigo E, Merino González A. Hemostasia práctica en el laboratorio clínico. Ed. Comité de Comunicación de la Sociedad Española de Medicina de laboratorio. Barcelona. 2018.
3. Páramo Fernández JA, García Frade LJ. Diagnóstico de los trastornos de la hemostasia. En: Moraleda Jiménez JM. Pregrado de Hematología. Ed. Luzán 5. Madrid. 2017. p. 579-590.
4. Winter WE, Flax SD, Harris NS. Coagulation testing in the core laboratory. Lab Medicine. 2017; 48 (4): 295-313.
5. Martinuzzo M. Pruebas de laboratorio para la evaluación de la hemostasia: fundamentos básicos. Hematología. 2017; 21 (1): 56-68.

CAPÍTULO 6. HEMATIMETRÍA Y FÓRMULA MANUAL

Elsa Escuder Azuara ^{1*}

¹ Residente de Análisis Clínicos, Hospital del Mar (Parc de Salut Mar), Barcelona.

1. INTRODUCCIÓN

El hemograma y, en algunos casos, el estudio morfológico de la sangre periférica, son fundamentales para detectar alteraciones relacionadas con patologías de carácter urgente, tanto hematológicas como no hematológicas.

2. HEMATIMETRÍA

La hematimetría mediante contadores hematológicos automatizados nos proporciona un análisis cuantitativo y cualitativo de las tres series celulares de la sangre: serie roja, serie blanca y plaquetas.

2.1 Serie roja:

En el análisis de la serie eritrocitaria se evalúan principalmente los siguientes parámetros:

- ❖ **Recuento de hematíes (RBC):** cantidad total de eritrocitos en la muestra de sangre. Se eleva en casos de poliglobulia y disminuye en las anemias.
- ❖ **Hemoglobina:** resultado expresado como concentración de hemoglobina circulante. Se eleva en casos de poliglobulia y disminuye en las anemias.
- ❖ **Hematocrito (HCT):** representa la proporción de glóbulos rojos frente a la fracción plasmática en la sangre. Aumenta en casos de poliglobulia (verdadera o secundaria a hemoconcentración) y disminuye en las anemias y en estados de hemodilución.
- ❖ **Volumen corpuscular medio (VCM):** es un índice del volumen promedio eritrocitario.

$$VCM = \frac{HCT \times 10}{RBC}$$

Es de utilidad para clasificar anemias. Un volumen menor de 83fL indica una anemia microcítica, un volumen entre 83-101fL se da en anemias normocíticas, y cuando es mayor de 101fL la anemia se clasifica como macrocítica.

Para filiar una anemia, no solo son necesarios los parámetros hematimétricos, también se utilizan algunos parámetros bioquímicos como ferritina, hierro, transferrina, índice de saturación de la transferrina, vitamina B12, ácido fólico, bilirrubina, LDH, haptoglobina... Estos tres últimos, junto con la prueba de Coombs directo, cobran especial importancia en los casos de sospecha de anemia hemolítica.

- ❖ **Hemoglobina corpuscular media (HCM):** este parámetro refleja el contenido de hemoglobina promedio de cada hematíe.

$$HCM = \frac{\text{Hemoglobina}}{RBC}$$

Disminuye en estados de hipocromía y aumenta en estados hiperocrómicos.

- ❖ **Concentración corpuscular media de hemoglobina (CHCM):** es la cantidad de hemoglobina que contienen los hematíes en un volumen determinado.

$$CHCM = \frac{\text{Hemoglobina} \times 100}{HCT}$$

Se ve aumentado en múltiples casos como en presencia de esferocitos o en algunas hemoglobinopatías. Disminuye en estados de hipocromía.

- ❖ **Amplitud de distribución eritrocitaria (RDW):** índice que indica la variación en el tamaño de los eritrocitos. Su aumento indica anisocitosis.

2.2 Serie blanca:

Además del recuento total de leucocitos, los autoanalizadores hematológicos determinan la fórmula leucocitaria, es decir, el porcentaje de cada tipo celular (neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos).

- ❖ **Leucocitos totales (WBC):** es un conteo de todas las células de la serie blanca. Su aumento se denomina leucocitosis y puede deberse a múltiples causas (fisiológicas, infecciones, secundaria a otro proceso patológico, neoplasias, etc.). En caso de leucocitosis se debe diferenciar la línea o líneas celulares que están aumentadas. Su disminución se denomina leucopenia y se puede deber a tratamientos farmacológicos, radiológicos o quimioterápicos, infecciones...
- ❖ **Neutrófilos:** son los leucocitos más abundantes en sangre periférica. Su aumento se denomina neutrofilia y puede deberse a infecciones bacterianas, neoplasias o síndromes mieloproliferativos, entre otros. Una disminución en el recuento de neutrófilos se denomina neutropenia y se debe a múltiples causas como fármacos, infecciones virales, sepsis, neutropenias cíclicas, neoplasias, etc.
- ❖ **Linfocitos:** el aumento absoluto de linfocitos se denomina linfocitosis, con mayor frecuencia se debe a infecciones virales, otras causas son hepatitis, tuberculosis, síndromes linfoproliferativos... La linfocitosis puede deberse a causas fisiológicas en la infancia. La disminución en el recuento de linfocitos se denomina linfopenia y puede ser a causa de sepsis, VIH o algunos tratamientos como corticoides, entre otros.
- ❖ **Monocitos:** son células fagocíticas. Su aumento (monocitosis) es característica de periodos de recuperación de neutropenias, cuadros infecciosos crónicos, neoplasias,

en la leucemia mielomonocítica crónica, etc. Un número bajo (monocitopenia) no suele tener una alta relevancia clínica, se da en infecciones agudas, leucemias agudas, por el tratamiento con algunos fármacos...

- ❖ **Eosinófilos:** el aumento de eosinófilos se conoce como eosinofilia y puede darse en casos de alergias, parasitosis, en síndromes mieloproliferativos o en el síndrome hipereosinofílico, entre otros. Su disminución se denomina eosinopenia y no suele tener relevancia clínica.
- ❖ **Basófilos:** son los leucocitos menos abundantes en sangre periférica. Su aumento se denomina basofilia y se da, principalmente, en la leucemia mieloide crónica, y, con menos frecuencia, en algunas infecciones víricas. La disminución en el recuento de basófilos no suele tener relevancia clínica.

En ocasiones, los autoanalizadores nos ofrecen determinadas alarmas que indican que debemos revisar la morfología mediante una extensión de sangre periférica. Algunas de estas alarmas pueden ser, por ejemplo, alto porcentaje de desviación izquierda (formas inmaduras de la serie polimorfonuclear como promielocitos, mielocitos, metamielocitos o bandas), detección de células anormales, detección de estadios celulares inmaduros (blastos), etc.

Igualmente, se requiere revisión del frotis de sangre periférica en casos de pancitopenia (disminución de las tres series), neutropenia severa, linfocitosis o cualquier otra situación que nos haga sospechar la existencia de una patología hematológica.

2.3 Plaquetas:

Otro recuento incluido en el hemograma es el recuento plaquetario. Además, del número total de plaquetas, se evalúan parámetros que evalúan su tamaño.

- ❖ **Recuento de plaquetas:** cantidad total de plaquetas en la muestra de sangre. El recuento aumentado se denomina trombocitosis (asociada a cuadros inflamatorios crónicos, procesos infecciosos, algunos síndromes mieloproliferativos y especialmente en la trombocitosis esencial), mientras que su disminución se denomina trombocitopenia (hepatopatías, de origen inmunológico como la púrpura trombocitopénica inmune, coagulación intravascular diseminada...).
- ❖ **PDW:** índice que indica la variación en el tamaño de las plaquetas. Su aumento indica anisotrombia.
- ❖ **VPM:** es un índice del volumen promedio plaquetario. Su aumento indica la presencia de plaquetas grandes.

Los valores de referencia para cada parámetro explicado en este apartado se encuentran en el anexo Y.

3. EXTENSIÓN DE SANGRE PERIFÉRICA

Mediante una extensión de sangre periférica teñida con May Grünwald-Giemsa visualizada al microscopio podemos detectar diversas alteraciones en las tres series.

3.1 Serie roja:

Los hematíes (figura 1) tienen un tamaño pequeño (7,5 μm), forma de disco bicóncavo y una zona central pálida, no presentan núcleo.

Además de los hematíes normales, podemos encontrar formas precursoras de estos como los eritroblastos, hematíes con alteraciones del tamaño (microcitos y macrocitos), hematíes con alteraciones en la forma (esferocitos, eliptocitos, ovalocitos, dacriocitos, dianocitos, estomatocitos, esquistocitos, equinocitos, acantocitos, drepanocitos, excentrocitos, queratocitos, fish cells), y hematíes con alteraciones de la coloración (hipocrómicos, hiperocrómicos, policromasia, punteado basófilo, cuerpos de Pappenheimer, cuerpos de Howell-Jolly, anillos de Cabot). Las imágenes esquemáticas de estas alteraciones se encuentran en el Anexo Z.

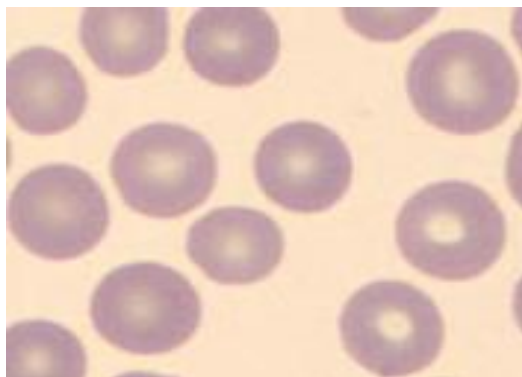


Figura 1. Hematíes normocíticos y normocrómicos. Elaboración propia

3.2 Serie blanca:

Los neutrófilos (figura 2A) tienen un tamaño entre 12-16 μm de diámetro, el núcleo se halla dividido en varios segmentos (entre 2 y 5) y se compone de cromatina madura y condensada, y citoplasma de color rosa pálido con gránulos de color rosa-violeta.

Los linfocitos (figura 2B) tienen un diámetro de 10 a 16 μm , un núcleo de perfil redondeado con cromatina madura y condensada y citoplasma basófilo que, en ocasiones, presenta granulación azurófila.

Los monocitos (figura 2C) son más grandes (12- 20 μm de diámetro), con un núcleo de forma arriñonada con cromatina poco densa y que puede presentar vacuolas, y con citoplasma amplio, de color azul-gris y con granulación muy fina azurófila.

Los eosinófilos (figura 2D) tienen un tamaño de entre 10 y 18 μm , núcleo bilobulado con cromatina madura y densa y citoplasma con grandes gránulos de color naranja.

Los basófilos (figura 2E) tienen un tamaño de 10 a 16 μm , un núcleo con hasta 4 lóbulos y un citoplasma con una granulación muy basófila de color púrpura que normalmente cubre toda la célula enmascarando el resto de sus características.

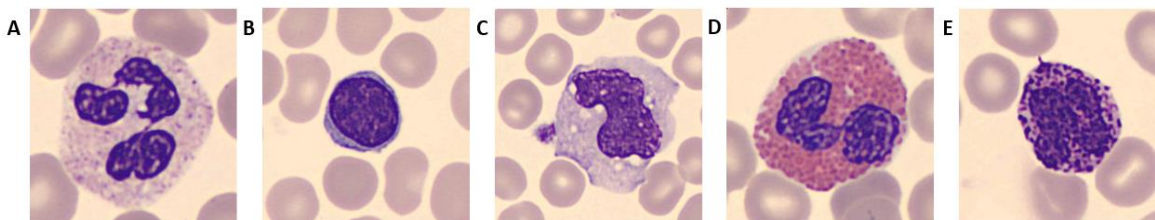


Figura 2. A) Neutrófilo segmentado. B) Linfocito. C) Monocito. D) Eosinófilo. E) Basófilo. *Elaboración propia*

En cuanto a las alteraciones morfológicas de la serie blanca, podemos encontrarnos en una extensión de sangre periférica elementos inmaduros como bandas, metamielocitos, mielocitos, promielocitos o incluso blastos, alteraciones de la segmentación, alteraciones de la granulación, etc. Las imágenes esquemáticas de estos ejemplos se encuentran en el Anexo Y.

3.3 Plaquetas

Las plaquetas (figura 3) son fragmentos citoplasmáticos de los megacariocitos, de forma irregular, sin núcleo, con una granulación fina azurófila y con un diámetro de 1 a 3 μm . En la revisión de la extensión se debe verificar que las plaquetas tienen un tamaño como el mencionado y uniforme en todas ellas, además de fijarnos en que están bien granuladas.

En los casos en los que el recuento da un número bajo de plaquetas, se debe comprobar si es una trombocitopenia real o una pseudotrombocitopenia por agregados EDTA-dependiente. En primer lugar, debemos descartar que este recuento bajo sea debido a que

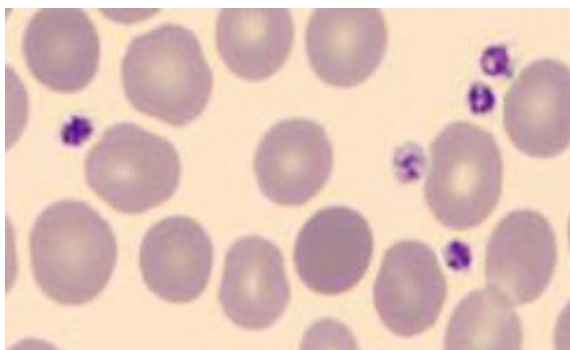


Figura 3. *plaquetas normales. Elaboración propia.*

la muestra está coagulada. Una vez revisada la ausencia de coágulo, podemos revisar las plaquetas en una extensión de sangre periférica para verificar si existen agregados EDTA-dependientes. En caso de presencia de agregados, se debe solicitar recuento de plaquetas en tubo de citrato para realizar el contaje.

4. BIBLIOGRAFÍA:

1. Bain B, Bates I, Laffan M, Lewis S. Dacie and Lewis practical haematology. 12th ed. 2017.
- Merino A. Manual de citología de sangre periférica y líquidos biológicos. 2nd ed. 2020.
2. Freund M, Heckner F. Hematología. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2011.
- Bain BJ. Diagnosis from the blood smear. N Engl J Med. 2005;353(5):498–507.
3. McPherson RA, Pincus MR. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. 22a ed. Londres, Inglaterra: W B Saunders; 2011.
4. Aguado Bueno B, Alegre Amor A, Burgaleta Alonso de Ozalla C. Manual del médico residente en hematología y hemoterapia. [Madrid]: Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia; 2015.
5. Prieto Valtueña J, Yuste Ara J. La clínica y el laboratorio. 23.ª ed. Barcelona: Elsevier España; 2019.

CAPÍTULO 7. GASOMETRÍAS

Alicia Mata Fernández ^{1*}

¹ Facultativo Especialista de Bioquímica Clínica, Laboratorios Eurofins Megalab, Madrid.

1. INTRODUCCIÓN

La gasometría o análisis de gases es una técnica invasiva que se realiza cuando se desea evaluar:

- El estado de oxigenación del paciente, el cual comprende a su vez diferentes etapas: captación de oxígeno (O₂) a nivel pulmonar, transporte de O₂ a través de la sangre hacia los tejidos, liberación del O₂ en los tejidos y oxigenación tisular.
- El equilibrio ácido-base.
- Control de oxigenoterapia.

Este estudio, realizado en los gasómetros, comprende una serie de parámetros para los cuales se obtienen resultados medidos (directos, tabla 1) y resultados calculados (tabla 2).

Parámetro medido	Técnica	Valores de referencia	Significado clínico
pH	Potenciometría	7.35-7.45	Refleja la homeostasis del organismo
pCO ₂	Potenciometría (electrodo de Severinghaus)	Sangre arterial: 35-45mmHg Sangre venosa: 41-51mmHg Hipercapnia: >45mmHg Hipocapnia:<35mmHg	Hace referencia a la presión ejercida por el dióxido de carbono (CO ₂) que se halla disuelto en el plasma. Refleja la eficacia de la ventilación alveolar
pO ₂	Amperometría (electrodo de Clark)	Sangre arterial: 80-100mmHg Sangre venosa: 24-40mmHg Hipoxemia leve: 71-80mmHg Hipoxemia moderada: 61-70mmHg Insuficiencia respiratoria: <60mmHg	Hace referencia a la presión ejercida por el O ₂ que se halla disuelto en el plasma. Evalúa la captación de oxígeno a nivel pulmonar

Lactato	Amperometría	Sangre arterial: 0.5-1.6mmol/L Sangre venosa: 0.5-2.2mmol/L	Es un buen indicador del grado de oxigenación tisular. Aumenta cuando el metabolismo anaeróbico se ve incrementado, generándose lactato a partir de piruvato
Hematocrito	Conductividad	Hombres: 54-57% Mujeres: 47-54%	Relación del volumen de los eritrocitos respecto al volumen de la sangre total
Hb y sus fracciones	Espectrofotometría	Hombres: 14-18g/dL Mujeres: 12-16g/dL	La hemoglobina total (ctHb) es igual a O ₂ Hb + HHb + COHb + MetHb + SHb. Es una medida de la capacidad potencial total de transporte de O ₂
sO ₂	Medida directamente a partir del co-oxímetro. $SO_2(\%) = \frac{[\%O_2Hb]}{(100 - [\%COHb + \%MetHb])} \times 100$	Sangre arterial: 95-98% Sangre venosa: 40-70%. Aunque la muestra arterial sea la de elección para evaluar el estado de oxigenación del paciente, la muestra venosa es de interés en pacientes críticos (shock, sepsis...) asociándose niveles <60% a una mayor mortalidad.	Representa el porcentaje del volumen de O ₂ transportado por la sangre respecto al volumen máximo que puede transportar

Tabla 1. Parámetros medidos en el gasómetro. (pCO₂: Presión parcial de dióxido de carbono; pO₂: Presión parcial de oxígeno; sO₂: Saturación de O₂ medida; Hb: Hemoglobina; O₂Hb: Oxihemoglobina; HHb: Deoxihemoglobina; COHb: Carboxihemoglobina; MetHb: Metahemoglobina; SHb: Sulfohemoglobina).
Elaboración propia

Parámetro calculado	Valores de referencia	Significado clínico
[HCO ₃ ⁻] real	Sangre arterial: 22-28mmol/L	Es la concentración real de bicarbonato en plasma teniendo en cuenta el pH y la pCO ₂ del paciente. Ventaja: resultado más preciso del paciente.
	Sangre venosa: 26-32mmol/L	El bicarbonato es el principal tampón del organismo (bicarbonato/ácido carbónico), jugando un papel esencial en el mantenimiento del pH en sangre
[HCO ₃ ⁻] std	Sangre arterial: 23-27mmol/L	Es la concentración de bicarbonato corregida a 37°C, pCO ₂ =40mmHg y pO ₂ ≥100mmHg. Ventaja: evalúa de forma más certera el componente metabólico ya que la pCO ₂ está estandarizada
tCO ₂	Sangre arterial: 27-33mmol/L Sangre venosa: 23-29mmol/L	Hace referencia a la suma del CO ₂ disuelto en plasma (libre) más el CO ₂ en forma de bicarbonato
Exceso de bases in vivo (EBecf)	Hombres: -1.5 a 3mmol/L Mujeres: -3 a 2mmol/L	Concentración teórica de ácido o base necesaria para corregir el pH de un litro de sangre y llevarlo a un valor de 7.4. Hace referencia al exceso de bases del líquido extracelular. Al igual que el bicarbonato, es una medida del componente metabólico (no del respiratorio) de la alteración ácido-base
Exceso de bases in vitro [EB (B)]	-2 a 3mmol/L	Es el exceso de bases corregido a 37°C, pCO ₂ =40mmHg y saturación de O ₂ real

sO_2c	<p>Sangre arterial: 95-98%</p> <p>Sangre venosa: 40-70%.</p>	<p>Representa el porcentaje del volumen de O_2 transportado por la sangre respecto al volumen máximo que puede transportar en condiciones estándar (37°C y pH=7.4). No constituye un buen indicador para evaluar la capacidad de transporte de O_2 en aquellos pacientes que presenten fracciones de dishemoglobinas elevadas, en cuyo caso es de mayor utilidad la sO_2 medida directamente por el cooxímetro</p>
Concentración total de O_2	<p>Hombres: 18.8-22.3mL/dL</p> <p>Mujeres: 15.8-19.9mL/dL</p>	<p>Hace referencia a la suma del O_2 disuelto en plasma (libre) más el unido a la Hb. Es el mejor indicador para evaluar el transporte de O_2</p>

Tabla 2. Parámetros calculados en el gasómetro. ($[HCO_3^-]$ real: Concentración de bicarbonato real; $[HCO_3^-]$ std: Concentración de Bicarbonato estándar; tCO_2 : Dióxido de Carbono total; sO_2c : Saturación de O_2 calculada). Elaboración propia

2. PREANALÍTICA

Las muestras destinadas a gasometrías son especialmente sensibles a errores preanalíticos, por ello se debe prestar atención a determinadas variables preanalíticas que influyen en el análisis posterior.

2.1 Tipos de muestras

- ❖ **Arterial:** para su obtención se realiza la punción en la arteria femoral, radial o braquial. También se puede extraer de un catéter arterial, pero hay que tener la precaución de desechar los primeros mililitros al realizar la extracción. Esto es debido a que en el lavado de los catéteres suele emplearse heparina.
- ❖ **Sangre capilar:** se utiliza como alternativa a la arterial cuando la extracción de esta resulta muy difícil o está contraindicada (recién nacidos, quemados, obesos, síncope...).
- ❖ **Venosa:** este tipo de muestra no es válida para la valoración del estado de oxigenación del paciente, únicamente para la valoración del equilibrio ácido-base. La ventaja que presenta es que es menos dolorosa para el paciente.

2.2 Tipos de contenedores

- ❖ **Jeringa de vidrio:** se considera el material de referencia debido a su impermeabilidad a los gases. Sin embargo, hoy en día su utilización es escasa debido a la necesidad de esterilización para su reutilización (poco práctico), elevado coste y fragilidad.
- ❖ **Jeringa de plástico:** al ser de polipropileno no requieren esterilización, no se rompen y presentan bajo coste. Su principal inconveniente es la permeabilidad a los gases,

siendo necesario el procesamiento urgente de la muestra tras su extracción (no más de 30 minutos).

- ❖ **Capilares de vidrio o de plástico:** contienen heparina y admiten un reducido volumen de sangre, por lo que es fácil que se coagule la muestra si no se homogeniza correctamente. Para evitarlo, se utiliza una pulga metálica y un imán.

2.3 Anticoagulantes

El anticoagulante de elección es la heparina liofilizada. No es recomendable el uso de heparina líquida por el efecto dilución, ni el uso de heparina sódica ya que puede generar un falso incremento del valor de este parámetro. Tampoco es adecuado utilizar ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), citrato, oxalato o fluoruro para el estudio de gasometría.

2.4 Consideraciones a tener en cuenta

- ❖ Se deben **evitar las burbujas o cámaras de aire**, puesto que la presencia de éstas en la jeringa tenderá a incrementar los valores de pO_2 (la pO_2 atmosférica es 150mmHg, aproximadamente) y a reducir los de pCO_2 .
- ❖ **Es necesaria una correcta homogeneización** de la muestra para evitar coágulos y sedimentación sanguínea, ya que pueden verse afectados los valores de pH, pO_2 , pCO_2 y hemoglobina (mejor indicador de una mala homogeneización de la muestra).
- ❖ Las gasometrías deben ser **procesadas en el menor tiempo posible** tras su extracción. Las muestras obtenidas en jeringas de plástico se procesarán en un máximo de 30 minutos desde su extracción y deben conservarse a temperatura ambiente. Dada la alta permeabilidad de este tipo de contenedor, a bajas temperaturas se vería favorecido el intercambio gaseoso entre el interior de la jeringa y el aire ambiental, afectando a los resultados (principalmente la pO_2). En caso de no ser posible el procesamiento de la muestra en 30 minutos, deben utilizarse las jeringas de vidrio y conservarse en agua-hielo entre 0 y 4°C durante un máximo de 60 minutos.
- ❖ El uso del **tubo neumático para el envío de gasometrías no está recomendado**, ya que pueden formarse microburbujas de aire durante el transporte, viéndose alterados, principalmente, los valores de pO_2 .
- ❖ Valores elevados de bilirrubina pueden incrementar los valores de carboxihemoglobina y reducir los de oxihemoglobina.
- ❖ La lipemia origina turbidez en la muestra, que puede afectar a la determinación de las fracciones de hemoglobina por espectrofotometría al interferir en la absorbancia.
- ❖ La leucocitosis, además de incrementar el metabolismo (aumento del consumo de O_2 , dando lugar a una falsa hipoxemia), puede interferir en la determinación del hematocrito por conductimetría.

3. EQUILIBRIO ÁCIDO-BASE

Las alteraciones del equilibrio ácido-base pueden ser metabólicas o respiratorias. Para realizar una adecuada interpretación del mismo, se deben tener en cuenta los siguientes aspectos:

❖ **Determinar el trastorno primario:** $\text{pH} < 7.35$ Acidemia (acidosis); $\text{pH} > 7.45$ Alcalemia (alcalosis). Es posible encontrar trastornos del equilibrio ácido-base con valores de pH no alterados cuando ya se han establecido mecanismos compensadores o en presencia de trastornos mixtos.

❖ **Definir el origen del trastorno primario:**

➤ **Acidosis metabólica:** el pH disminuye como consecuencia de la reducción de la concentración plasmática de bicarbonato. Como mecanismo compensatorio, se produce un descenso de la pCO_2 por estimulación de los quimiorreceptores que controlan la respiración (hiperventilación). La respuesta a nivel pulmonar comienza al cabo de 1-2 horas, llegando a su máximo en 12-24 horas.

● **Causas:** por **acúmulo de ácidos no volátiles**, ya sea por aumento en la producción (acidosis láctica, cetoacidosis), por aporte exógeno (ingesta de salicilatos, metanol, etilenglicol...) o disminución de la excreción renal (insuficiencia renal, acidosis tubular renal); o bien, por **pérdidas de bases** como el bicarbonato, ya sean renales (acidosis tubular renal tipo 2) o digestivas (diarrea, fístulas pancreáticas, biliares o intestinales, colestiramina...). Se pueden clasificar en función del anión GAP o hiato aniónico (si está elevado o no), que se basa en la diferencia entre cationes y aniones, teniendo en cuenta el catión mayoritario (Na^+) y los aniones mayoritarios ($\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-$). El incremento del anión GAP hace referencia al aumento de sustancias aniónicas como albúmina, proteínas, sulfatos, fosfatos o lactato.

➤ **Alcalosis metabólica:** el pH aumenta como consecuencia del incremento de la concentración plasmática de bicarbonato. Como mecanismo compensatorio, se produce un incremento de la pCO_2 por inhibición del centro respiratorio (hipoventilación).

● **Causas:** pérdida de protones, ya sea vía digestiva (vómitos, aspirado gástrico) o renal (diuréticos), administración exógena de bases (tratamiento con antiácidos, bicarbonato, citrato en transfusiones), hiperaldosteronismo, síndrome de Cushing, corticoides, y debido a la hipopotasemia, que produce un desplazamiento intracelular de protones y extracelular de potasio y, un incremento en la reabsorción de bicarbonato.

➤ **Acidosis respiratoria:** el pH disminuye como consecuencia de un incremento de la pCO_2 por disminución de la capacidad pulmonar para eliminar el CO_2 o debido a hipoventilación. La respuesta compensatoria a nivel renal es lenta, por lo que en las formas agudas el mecanismo compensatorio se limita al incremento de la

frecuencia respiratoria y el tamponamiento celular por proteínas y hemoglobina. En las formas crónicas se estimula la secreción renal de protones, aumentando así la reabsorción de bicarbonato.

- **Causas:** por depresión del centro respiratorio (fármacos, lesiones del SNC, síndrome de apnea obstructiva del sueño...), por patología propia del aparato respiratorio (obstrucción de las vías aéreas superiores, neumonía, neumotórax, EPOC...) o por enfermedades neuromusculares y de la pared torácica (Síndrome de Guillain-Barré, esclerosis múltiple, ELA, lesión medular, traumatismo torácico, poliomielitis...).

➤ **Alcalosis respiratoria:** el pH aumenta como consecuencia de una disminución de la $p\text{CO}_2$ por hiperventilación. Como mecanismo compensatorio, se produce una disminución de la excreción renal de protones que se inicia a las pocas horas y se completa a los 2-3 días.

- **Causas:** por hipoxia (enfermedades pulmonares, insuficiencia cardiaca congestiva, grandes alturas, anemia...), por estimulación directa del centro respiratorio central (hiperventilación psicógena, insuficiencia hepática, intoxicación por salicilatos, hipercorrección de una acidosis metabólica, embarazo, ictus, traumatismo craneoencefálico, meningitis, tumor cerebral...) o por ventilación artificial excesiva.

❖ **Analizar la compensación:** Además de estas alteraciones simples, se pueden presentar alteraciones mixtas, en las que podemos encontrar de forma simultánea dos o más trastornos. Para su comprensión se utiliza el nomograma de Müller-Plathe.

- Acidosis respiratoria y acidosis metabólica: se encuentran valores de $p\text{CO}_2$ demasiado elevados para el descenso de bicarbonato (Ejemplo: edema de pulmón e insuficiencia renal).
- Acidosis respiratoria y alcalosis metabólica: se encuentran valores de bicarbonato demasiado elevados para el incremento de $p\text{CO}_2$. (Ejemplo: pacientes EPOC que están en tratamiento con diuréticos del asa).
- Alcalosis respiratoria y acidosis metabólica: se encuentran valores de $p\text{CO}_2$ demasiado bajos para la disminución de bicarbonato (Ejemplo: intoxicación por salicilatos).
- Alcalosis respiratoria y alcalosis metabólica: se encuentran valores de $p\text{CO}_2$ demasiado bajos para el aumento de bicarbonato (Ejemplo: pacientes dializados con alcalosis respiratoria).

4. BIBLIOGRAFÍA

1. Baird G. Preanalytical considerations in blood gas analysis. *Biochem Med (Zagreb)* 2013;23(1):19-27. doi: 10.11613/bm.2013.005.
2. Davis MD, Walsh BK, Sitting SE, Restrepo RD. AARC Clinical Practice Guideline: Blood Gas Analysis and Hemoximetry. *Respiratory Care*. 2013;58(10):1694-1703; doi: 10.4187/respcare.02786.
3. Navarro Segarra X, et al. Recomendaciones preanalíticas para la medición del equilibrio ácido-base y gases en sangre. Comisión de Magnitudes Biológicas relacionadas con la urgencia médica (Documento H). Documentos de la SEQC 2009.
4. Oliver P, et al. Estudio de la oxigenación e interpretación de la gasometría arterial. Revisión 2014. Comisión de Magnitudes Biológicas relacionadas con la urgencia médica. Grupo de Trabajo sobre Pruebas de laboratorio en el lugar de asistencia (POCT). Documentos de la SEQC 2015.
5. Prieto de Paula JM, Franco Hidalgo S, Mayor Toranzo E, Palomino Doza J, Prieto de Paula JF. Alteraciones del equilibrio ácido-base. *Dial Transpl*. 2012;33(1):25-34. doi:10.1016/j.dialis.2011.06.004

CAPÍTULO 8. MONITORIZACIÓN DE FÁRMACOS TERAPÉUTICOS

Tara Hernández Lemes ^{1*}

¹ Residente de Bioquímica Clínica. Complejo Hospitalario Universitario Insular-Materno Infantil, Las Palmas.

1. INTRODUCCIÓN

La determinación de las concentraciones terapéuticas efectivas y tóxicas de los fármacos se ha convertido en una de las funciones principales y más importantes del laboratorio. Es preciso que el clínico conozca las diversas influencias sobre la farmacocinética de un fármaco, factores como la semivida, el tiempo hasta los niveles máximos y el estado de equilibrio, unión a proteínas y excreción.

Es importante conocer la vía de administración y el momento de obtención de las muestras tras la última dosis del fármaco, de modo que se pueda interpretar correctamente los resultados.

Normalmente, las concentraciones plasmáticas máximas (**pico**) aisladas resultan de utilidad en las pruebas de toxicidad y las concentraciones **valle** aisladas son útiles para demostrar una concentración terapéutica satisfactoria. Las muestras para la determinación de las concentraciones valles habitualmente pueden extraerse en el momento en que se administra la siguiente dosis. Tanto las concentraciones pico como valle se utilizan para prevenir la toxicidad y garantizar la eficacia bactericida como en el caso de los antimicrobianos. Para determinar la concentración pico de los fármacos administrados por vía intravenosa (i.v.) o vía intramuscular (i.m.), se debe obtener dichas muestras de media hora a una hora después de finalizar la administración.

La sospecha de intoxicación es la causa más frecuente de la solicitud urgente de un nivel de fármacos. Las indicaciones para la realización de dichos niveles son los siguientes:

- Coma de origen desconocido
- Pacientes con desorientación, conducta agresiva o criminal
- Sobredosificación crónica de medicación habitual
- Se sospecha la ausencia de cumplimiento de la toma
- Para confirmar la causa de una toxicidad orgánica (Fallo renal o hepático)

La monitorización de fármacos consiste en medir la concentración de un fármaco en alguna matriz biológica, normalmente sangre, a un determinado tiempo y evaluar el cumplimiento de un rango terapéutico definido para evitar concentraciones subterapéuticas o tóxicas y conseguir una respuesta farmacológica.

No todos los fármacos son susceptibles de monitorizar y deben cumplir una serie de requisitos:

- Buena correlación entre el efecto farmacológico o tóxico y las concentraciones medidas.
- Estrecho margen terapéutico.
- Efectos adversos semejantes a la enfermedad.
- Alta variabilidad inter e intraindividual, farmacocinética y farmacogenética.

2. CONCEPTOS BÁSICOS

2.1 Farmacocinética

Para llevar a cabo la monitorización es necesaria la farmacocinética, que son fundamentos matemáticos que definen los procesos desde que el fármaco es absorbido, metabolizado y excretado.

En la figura 1 se describen los procesos mencionados:

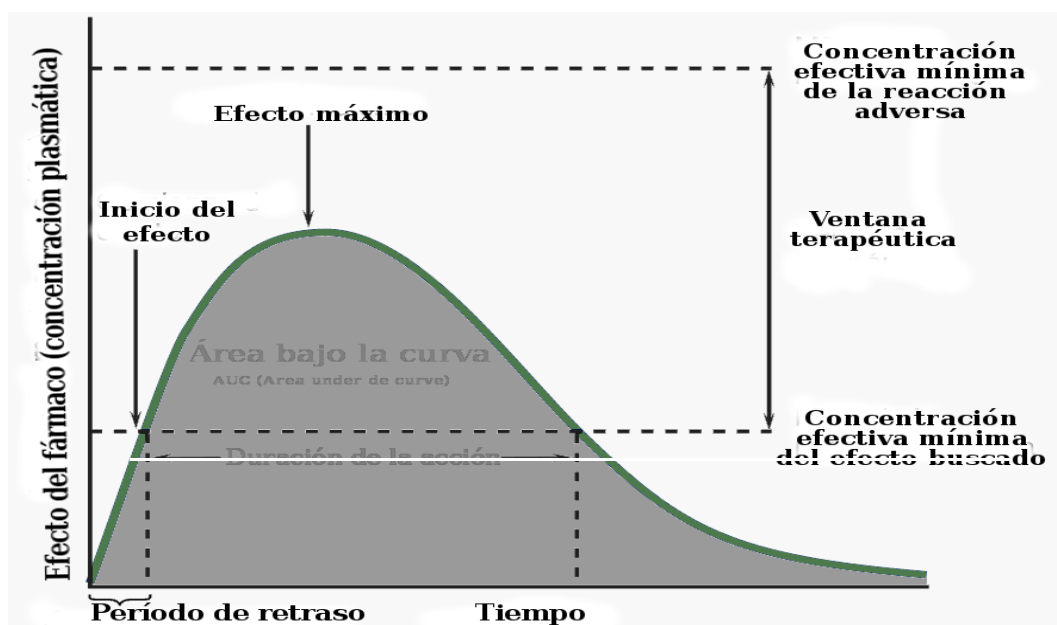


Figura 1: Intervalo terapéutico y parámetros farmacocinéticos. Tomado de Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica.

- ❖ Concentración mínima tóxica (CMT). Aquella a partir de la que se inicia el efecto tóxico.
- ❖ Concentración mínima eficaz (CME). Aquella a partir de la que comienza el efecto farmacoterapéutico.
- ❖ Ventana terapéutica (margen de seguridad). Margen de niveles plasmáticos comprendido entre la CME y CMT.
- ❖ Período de retraso. Espacio de tiempo entre el momento de la administración y el

comienzo del efecto terapéutico.

- ❖ Intensidad del efecto. Se relaciona con los niveles de concentración plasmática alcanzados por el agente farmacológico.
- ❖ Duración de la acción. Lapso de tiempo entre el instante en que se alcanza la CME y el instante en que desciende de dicho nivel.
- ❖ Concentración o efecto máximo (C_{máx}). Máximo nivel de concentración plasmática; representa el momento en el que los procesos de absorción y eliminación se igualan.
- ❖ Tiempo máximo (T_{máx}). Tiempo al cabo del cual se alcanza la C_{max}.

2.2 Farmacogenética

La farmacogenética se define como la ciencia que estudia la influencia de las variantes genéticas en la modificación de la respuesta a un fármaco. Estas variantes pueden ser polimorfismos, si la frecuencia poblacional es inferior al 1%, o mutaciones si es superior. Esto puede condicionar el fármaco que se debe seleccionar para tratamiento terapéutico, o bien su dosis si la variante afecta a la metabolización del fármaco, pudiendo realizarse una clasificación de los individuos en metabolizadores lentos, intermedios, rápidos o ultrarrápidos.

3. FÁRMACOS QUE SE MONITORIZAN HABITUALMENTE EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

A continuación, se resumen en la tabla 1 los principales fármacos que se monitorizan en un laboratorio de urgencias:

Fármaco	Intervalo terapéutico (µg/mL)	Concentración tóxica (µg/ml)	Tratamiento	Efectos tóxicos
ACETAMINOFENO (Paracetamol)	<50	Después de 4h >150 Después de 8h >75 Después de 12h > 40	Analgésico, antipirético	Fallo hepático
SALICILATOS	20-250	>1000	Analgésico, antipirético Antiinflamatorio Antiagregante	Coma

DIGOXINA	0,5-2 ng/mL	≥3 ng/mL	Cardiotónico En insuficiencia cardíaca, fibrilación auricular.	<u>Cardíacas:</u> bloqueo auriculoventricular, arritmias. Vómitos
ÁCIDO VALPROICO	50-150	≥200	Antiepiléptico Trastornos bipolares	Alteraciones hepáticas a nivel metabólico, pancreatitis. Alteraciones neuroológicas: dolor de cabeza, temblor, alucinaciones o cambios de la visión
CARBAMACEPINA	Monoterapia 8-12 Politerapia 4-8	≥15	Antiepiléptico Síndrome de abstinencia alcohol Trastornos bipolares	<u>Toxicidad crónica:</u> convulsiones. <u>Hematológicas:</u> anemia aplásica, leucopenia. <u>Cutáneas:</u> Síndrome de Stevens-Johnson
FENITOÍNA	Adulto/Niño 10-20 Neonatos 8-15	≥25	Antiepiléptico	<u>Cutáneas:</u> Síndrome de Stevens-Johnson. <u>Neuroológicas:</u> convulsiones <u>Hematológicas:</u> linfadenopatías, anemia aplásica
FENOBARBITAL	10-40	≥55	Hipnótico, antiepiléptico y sedante	Depresión profunda del SNC con fallo respiratorio y cardiorrespiratorio
TEOFILINA	Adultos 10-20 Niños 5-20	≥20	Broncodilatador En asma y apnea neonatal	<u>Digestivas:</u> vómitos en poso de café, deshidratación. <u>Neuroológicas:</u> síntomas maníacos, alucinaciones, hipertermia, coma. <u>Cardíaca:</u> arritmias.

LITIO	Crónicos 0,6-1,2 mmol/L Agudos 0,8-1,5 mmol/L	>2 mmol/L	Antipsicótico. Episodios manía aguda Trastornos bipolar	<u>Neurológicas:</u> temblores, convulsiones, coma
AMIKACINA	5-10 (valle) 20-25 (pico)	10 (valle) 30 (pico)	Antimicrobiano (aminoglucósido semisintético)	Nefrotóxico Ototóxico
GENTAMICINA	1-2 (valle) 4-8 (pico)	2 (valle) 8 (pico)	Antimicrobiano (aminoglucósido)	Nefrotóxico
TOBRAMICINA	1-2 (valle) 4-8 (pico)	>2 (valle) 8 (pico)	Antimicrobiano (aminoglucósido)	Nefrotóxico
VANCOMICINA	5-10 (valle) 20-40 (pico)	15 (valle) 40 (pico)	Antimicrobiano (glucopéptido)	Nefrotóxico Ototóxico

Tabla 1: Consideraciones generales de fármacos de determinación urgente. Elaboración propia. Las concentraciones están en unidades $\mu\text{g/mL}$ excepto los fármacos en los que están indicadas otras unidades.

A continuación, hablaremos más en profundidad de algunos de ellos.

3.1 Cardioactivos

Lidocaína, quinidina, procainamida, digoxina, disopiramida, propanolol.

Dentro de este grupo citaremos a la *digoxina* por su utilidad clínica. Es un cardiotónico digitálico de utilidad en la insuficiencia cardíaca y fibrilación auricular, pues incrementa la contractilidad del miocardio por actividad directa, con un intervalo terapéutico muy estrecho que condiciona la gravedad extrema en la sobredosificación y las intoxicaciones, por lo que es necesario individualizar la dosis y monitorizar los niveles plasmáticos. El paciente suele presentar arritmias cardíacas malignas o un shock cardiogénico. La muestra para la obtención de la concentración debe extraerse en la predosis en tubo de suero o plasma (heparina o EDTA)

La monitorización debe ir acompañada de un perfil iónico, ya que niveles bajos de potasio o magnesio o niveles altos de calcio aumentan la toxicidad de la *digoxina*. Además, hay que controlar la función renal, ya que es fundamental en su eliminación. En casos de intoxicaciones de elevada gravedad existe un antídoto que son anticuerpos antidigitales.

Sueros de individuos pertenecientes a ciertos grupos (pacientes afectados por insuficiencias renales y/o hepáticas, niños recién nacidos y mujeres gestantes) contienen un componente desconocido que produce resultados positivos en diversos inmunoanálisis. Dicho

componente se ha denominado “factor inmunorreactivo semejante a la digoxina (DLIF)”. La presencia de DLIF puede provocar falsos positivos.

3.2 Psicofármacos

Ácido valproico, carbamazepina, fenitoína, fenobarbital, etosuximida, levetiracetam, lamotrigina, gabapentina, oxcarbamacepina, primidona, vigabatrina, topiramato, zonisamida, litio.

- ❖ Debido a su elevada variabilidad inter e intraindividual, la correlación entre las concentraciones séricas y el efecto terapéutico, o las interacciones farmacológicas, aconsejan la individualización posológica.
- ❖ Importante tener en cuenta la alta unión que tienen a las proteínas, principalmente en el caso de la *fenitoína* y *ácido valproico* a la albúmina, donde en casos de hipoalbuminemia, que es frecuente en pacientes ingresados en la unidad de intensivos, el laboratorio puede corregir dicho resultado mediante fórmulas de concentración corregidas.
- ❖ Los antiepilépticos tradicionales (*fenitoína, fenobarbital, carbamazepina*) suelen eliminarse mediante metabolización hepática lo que implica que van a tener un elevado número de interacciones con todos aquellos medicamentos que también se metabolizan por el hígado, provocando así un aumento de la concentración de estos antiepilépticos.
- ❖ En cuanto al *litio*, que se emplea en la prevención y tratamiento de la psicosis maniacodepresiva, sus valores séricos se verán aumentados por disminución de la tasa de filtración glomerular (TFG) y por la deshidratación. En cambio, en pacientes con aumento de la TFG o quemados tendrán disminuidos los valores séricos del *litio*. Hay que tener en cuenta también que tiene efecto sobre los valores de otras pruebas del laboratorio, aumentando la TSH, la PTH y la GH entre otras.

3.3 Antibióticos

Amikacina, gentamicina, tobramicina, vancomicina

- ❖ Son de administración i.v. y con un estrecho rango terapéutico. Es muy importante controlar la función renal ya que ninguno es metabolizado y se excretan principalmente por filtración glomerular. Pacientes con insuficiencia renal alterarían la farmacocinética de dichos fármacos y si no se ajusta drásticamente la posología puede producirse una acumulación excesiva que derive en ototoxicidad y un empeoramiento de la insuficiencia renal.
- ❖ Se debe conocer tanto la concentración mínima o *valle* para prevenir, en el menor tiempo posible, que la concentración se encuentre por debajo de la concentración mínima inhibitoria del patógeno, lo que provocaría un tratamiento ineficaz. Y la concentración máxima o *pico*, para favorecer la erradicación bacteriana.

- ❖ La toma de muestra para la concentración mínima o *valle* debe ser inmediatamente antes de la nueva administración y la concentración máxima o *pico*, a los 30 minutos tras finalizar la perfusión.
- ❖ En cuanto a las limitaciones de los procedimientos destacar que la presencia de anticuerpos anti-galactosidasa de *E. coli* y la de anticuerpos antirratón humanos (HAMA) darán resultados artificialmente elevados (falsos positivos). Y la presencia de anticuerpos heterófilos pueden provocar la autoaglutinación del reactivo de microparticulas, lo que a su vez puede producir resultados erróneamente bajos inadvertidos (falsos negativos).

3.4 Inmunosupresores

Ciclosporina, tacrolimus, sirolimus, everolimus y micofenolato de mofetilo

- ❖ Interfieren en los linfocitos T para controlar la respuesta inmunitaria desencadenada por los antígenos ajenos al propio organismo en los trasplantes de órganos. Se extraen en el momento basal en muestras de sangre total, excepto *micofenolato* que es en plasma, debido a su distribución en los hematíes.
- ❖ El *metotrexato* es un antagonista del ácido fólico que a dosis altas se utiliza para el tratamiento de una gran cantidad de tumores, especialmente en la leucemia aguda linfoblástica, linfoma no Hodgkin y osteosarcoma. Según los protocolos se suele monitorizar a las 4, 12, 24, 36, 42 horas para estimar la cinética de eliminación y evitar intoxicaciones con *metotrexato*, ya que en ese caso habría que administrar el antídoto leucovorin (ácido folínico).

3.5 Otros

Teofilina

- ❖ Se trata de un broncodilatador de uso terapéutico para prevenir y tratar la patología asmática y se monitoriza por su amplia variabilidad interindividual y su estrecho margen terapéutico. Las concentraciones habitualmente se determinan durante los niveles *pico* más que en *valle*. La monitorización debe ir acompañada de una gasometría, ya que la acidosis metabólica se presenta en la intoxicación con la teofilina.

Paracetamol

- ❖ Fármaco que comúnmente se usa por sus propiedades analgésicas y antipiréticas. La sobredosis de paracetamol puede provocar daños hepáticos graves y causar insuficiencia hepática e incluso la muerte si no se administra el tratamiento adecuado. El diagnóstico temprano de la sobredosis de paracetamol es importante, ya que, si el tratamiento se inicia en las 16 horas posteriores a la ingestión, se reducen las posibilidades de que se produzcan lesiones hepáticas y disminuye la tasa de mortalidad.

El antídoto utilizado es el N-acetilcisteína. La monitorización debe ir acompañada de un perfil hepático y coagulación debido a su alta acción hepatotóxica.

4. UTILIDAD CLÍNICA

La historia clínica, la anamnesis, y la exploración física detallada, son los parámetros de los que depende el correcto diagnóstico del paciente. El valor de las determinaciones hechas en el laboratorio, es vital para la confirmación de dicho diagnóstico, pero también para la valoración del pronóstico y la instauración del tratamiento adecuado. Como mencionamos antes, las pruebas generales del laboratorio tales como glucosa, iones, función renal, función hepática y gasometría, también aportarán información vital para orientar al clínico.

Cuando nos encontramos casos tales como que los pacientes se presentan inestables, en coma o que no responden al tratamiento, se recomienda realizar un cribado general, derivando la muestra a un centro de referencia toxicológico, al disponer estos de la tecnología adecuada para efectuar este cribado.

5. INFORME DEL LABORATORIO EN FÁRMACOS

Cuando solicitan determinaciones de fármacos, es preciso que existan formularios de petición especial. A su vez, para que el resultado del nivel del fármaco sea útil para el clínico, deben cumplirse una serie de requisitos que trataremos a continuación:

- ❖ Extracción de la muestra en el momento idóneo: Este momento se encuentra en el valle o predosis. Cuando estemos ante una petición urgente, la extracción se puede realizar en las seis horas posteriores a una crisis en un paciente previamente controlado, tras un empeoramiento inexplicado, y cuando existe sospecha de toxicidad relacionado con la dosis, siendo preferibles las muestras pico en este último supuesto.
- ❖ Correcta interpretación de los niveles de fármacos: La utilidad que tiene el nivel de un fármaco puede variar dependiendo de su interpretación farmacocinética y farmacodinámica.
- ❖ El volante de solicitud de fármacos debe incluir:
 - Datos del paciente (sexo, edad, peso, enfermedades concomitantes...)
 - Médico que solicita la prueba (contacto)
 - Fecha y hora de la obtención de la muestra
 - Motivo del tratamiento.
 - Régimen terapéutico: dosis, vía, intervalo y duración.
 - Hora de la última dosis administrada.

El laboratorio debe asegurar que el clínico tiene el resultado a su disposición en el menor tiempo posible, inferior a la hora, ya sea por formato físico, electrónico o telefónicamente. El informe analítico debe constar de una serie de puntos como el nombre del fármaco

detallado, las unidades del mismo, el intervalo óptimo en función del paciente (pediátrico o adulto), o si la administración es de tipo crónica o aguda. Por último, hay que recordar que cuando estemos ante un valor crítico, se comunicará personalmente con el médico, actuando en función del protocolo existente en el laboratorio para este tipo de casos.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Importancia del laboratorio clínico en el análisis de drogas de abuso. Educación continuada en el laboratorio clínico; 16: 109-108. 2012-2013. Comisión de Monitorización de Fármacos y Toxicología Clínica de la SEQC.
2. Jacques Wallach. Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio. 4ª edición. Barcelona: MASSON, S.A.; 2002
3. Sociedad Española de Nefrología [portal en Internet]. Santander: Senefro; ©2015. Registro de enfermos renales. Disponible en: www.senefro.org
4. Hawks RL. Analytical methodology. In: Hawks RL, Chiang CN, eds. Urine Testing for Drugs of Abuse. NIDA Research Monograph. 1986;73:30-41.
5. Varo Sánchez. G.M, Sáez-Benito Godino. A; Manual de urgencias del laboratorio clínico 2013. Asociación Española de Biopatología Médica

CAPÍTULO 9. LÍQUIDOS BIOLÓGICOS

Yasmín Douhal Fernández ^{1*} y Carla Martín Grau ^{2*}

¹ Facultativo Especialista en Bioquímica Clínica.

² Facultativo Especialista en Análisis Clínicos. Hospital Universitario Joan XXIII, Tarragona

* Ambos autores contribuyeron igualmente.

La recogida de la muestra referente a los líquidos biológicos se especifica en el **capítulo 1: Preanalítica**, apartado **2.1 Tipos de muestra y contenedores**.

1. LÍQUIDO CEFAORRAQUÍDEO(LCR)

El LCR está contenido en el espacio subaracnoideo, en los ventrículos del cerebro y en las cisternas que los rodean. Se produce en su mayor parte en los plexos coroideos, mediante filtración selectiva por la presión hidrostática y la secreción de transporte activo. Las principales funciones del LCR son actuar como soporte y protección para el SNC, controlar las características químicas del SNC, transporte de algunas hormonas y neurotransmisores y actuar como vehículo para la excreción de productos. La composición puede verse alterada por traumatismos, inflamación de las meninges, obstrucciones o hemorragias. El LCR se va a obtener por punción lumbar generalmente.

Las razones para la obtención de este líquido deben estar claras: sospecha de meningitis, hemorragia subaracnoidea, absceso cerebral, encefalitis, leucemias con afección SNC, neoplasias, síndrome de GB, enfermedades desmielinizantes, diagnóstico diferencial entre hemorragia intracraneal e infarto. El LCR también puede emplearse para la identificación de éste en las fístulas nasales u óticas.

❖ Principales determinaciones analíticas en LCR:

Examen macroscópico	<p>El LCR normal es incoloro, inodoro y con una viscosidad similar a la del agua. Observar si presenta aspecto turbio (↑leucocitos, microorganismos, ↑proteínas), aceitoso (medio de contraste, glóbulos de grasa) o hemorrágico (punción traumática o hemorragia).</p> <ul style="list-style-type: none">• Xantocromía: Técnica de utilidad en el diagnóstico de la hemorragia subaracnoidea. Xantocromía hace referencia a la coloración rosada o anaranjada del sobrenadante después de la centrifugación. Aparece 2-4h después de la hemorragia subaracnoidea pudiendo estar presente hasta 4 semanas. Falsas xantocromías pueden darse en algunos casos: presencia de bilirrubina procedente del plasma, demora en la
----------------------------	---

	<p>centrifugación del LCR hemático, presencia de carotenoides, presencia de melanina, contaminación por desinfectantes. En los prematuros puede darse por la combinación de la elevada concentración de bilirrubina y proteínas en el plasma y la inmadurez de la BHE.</p>
<p>Examen microscópico</p>	<p><u>Recuento celular</u>: valores normales 0-10 leucocitos/μl en adultos. En neonatos se consideran normales hasta 20 leucocitos/μl. En el adulto predominan los linfocitos (62%), monocitos (36%) mientras que en neonatos predominan los monocitos (72%), linfocitos (20%). En un LCR no encontraremos neutrófilos normalmente. Encontraremos una pleocitosis (incremento de células en LCR) marcada ($>100/\mu$L) en meningitis bacteriana (neutrófilos), tuberculosa, vírica (linfocitos), linfocitaria, rotura de absceso cerebral o infiltración por células hematológicas malignas. Además, se pueden observar células blásticas por infiltración del SNC por leucemia o linfoma.</p>
<p>Estudio bioquímico</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Glucosa: es importante conocer la concentración plasmática. Aproximadamente es un 50-80% de la concentración del suero. Es útil para la monitorización de la respuesta al tratamiento. Concentraciones elevadas de glucosa pueden darse en pacientes con diabetes mellitus, encefalitis, presión intracraneal aumentada... Mientras que concentraciones bajas suelen ir asociadas a meningitis bacteriana o tuberculosa, tumores, leucemias, linfomas. Suele ocurrir que en meningitis virales las concentraciones de glucosa en LCR permanecen normales. • Proteínas: Su presencia en el LCR va a depender de la carga eléctrica de la molécula, el tamaño, la concentración plasmática y el estado de la BHE. La proteína que se encuentra en mayor cc es la albúmina (50-60%), después la prealbúmina, la transferrina e IgG, IgA y ceruloplasmina en menor cantidad. En RN la cc de proteína es elevada 30-140mg/dL debido a la inmadurez de la BHE, descendiendo durante el primer año de vida y se mantiene durante la infancia. Valores normales en el adulto: 15-45mg/dL aumentando con la edad. Así, la medida de proteína en el líquido valorará el estado de la BHE, detectar procesos inflamatorios en el SNC o descubrir procesos en los que se produzca degeneración/destrucción del SNC. El incremento de su cc es la alteración más frecuente,

	<p>puede deberse por aumento de la permeabilidad de la BHE, síntesis en tumores, obstrucción por traumatismos, accidentes vasculares, punción traumática, GB, EM. Mientras que, cc bajas de proteína (15mg/dL) se pueden ver en hipertensión intracraneal o pérdida de LCR.</p> <p>Para valorar la integridad de la BHE habrá que llevar a cabo el índice de albúmina_{LCR}/albúmina_{Suero}. Si el índice es <9 se considera que la barrera está intacta.</p> <ul style="list-style-type: none"> • LDH: el valor de referencia está entre 0-23.5 UI/L y constituye un marcador específico de necrosis celular. Se ve aumentado en tejido cerebral dañado, procesos tumorales, infecciones... • Lactato: su concentración no está relacionada con la cc plasmática. Se consideran niveles normales: 1.2-2.1 mmol/L. Se genera por el metabolismo anaerobio en el SNC, meningitis... Se utiliza para distinguir la meningitis bacteriana (>4.2 mmol/L) de la viral (<4.2mmol/L).
--	---

Tabla 1: Análisis del líquido cefalorraquídeo. Elaboración propia.

2. LÍQUIDOS SEROSOS

2.1. Líquido pleural (LP)

La pleura es una membrana fina que recubre el pulmón. El LP es un ultrafiltrado plasmático procedente de la pleura parietal y su reabsorción se realiza vía linfática, en su mayor parte a través de la pleura visceral. La acumulación/incremento del LP (>10mL) se denomina derrame pleural. La obtención del LP se realiza mediante toracocentesis.

Principales causas: cáncer (27%), insuficiencia cardíaca (20%), neumonía (18%), tuberculosis (9%), enfermedad pericárdica (3,5%) y cirrosis (3%).

Principales determinaciones analíticas en LP:

Examen macroscópico	Aspecto (claro/transparente, turbio, lechoso/opalescente, purulento, etc.) y color (amarillo claro/anaranjada/verdoso, hemático, blanquecino, etc.). LP normal: es amarillo/ámbar claro.
Examen microscópico	<u>Recuento celular</u> : La mayoría de los trasudados tienen una concentración inferior a 1000 leucocitos/ μ l mientras que en la mayoría de los exudados es superior. Puede haber predominio de <u>neutrófilos</u> (neumonía, pancreatitis, embolia pulmonar, lupus eritematoso sistémico, derrame pleural asbestósico, derrame pleural maligno); de <u>linfocitos</u> (tuberculosis, enfermedad neoplásica, pleuritis reumatoidea crónica, Sarcoidosis); <u>eosinófilos</u> (hemotórax, neumotórax, infarto pulmonar, en enfermedades parasitarias (hidatidosis, áscaris, amebas), infección

	<p>por hongos (Histoplasmosis), linfoma de Hodgkin, síndrome Churg-Strauss, etc.); de <u>células cancerosas</u> (derrame carcinomatoso). Si LP hemorrágico: calcular su hematocrito. Si es > al 50% del hematocrito de sangre periférica es diagnóstico de hemotórax.</p>
<p style="text-align: center;">Estudio bioquímico</p>	<ul style="list-style-type: none"> • pH: si <7.30 es característico de derrames malignos, infección pleural complicada, pleuritis reumatoide, derrames pleurales tuberculosos, rotura esofágica, hemotórax, acidosis sistémica. • Glucosa: valor normal entre 45-80 mg/dl (40-120 mg/dl en neonatos). Cuando es menor de 60mg/dl sugiere un derrame pleural paraneumónico, tuberculosis, artritis reumatoide, empiema, rotura esofágica, derrame pleural maligno (por consumo excesivo por parte del metabolismo celular o bacteriano). • Proteínas totales, lactato deshidrogenasa y albúmina: LP tipo <i>exudado</i> presentan concentraciones ↑proteínas mientras que en el caso de los <i>trasudados</i> las concentraciones de proteínas ↓. <ul style="list-style-type: none"> ❖ Criterios de Light para la identificación de derrames tipo exudado: <ul style="list-style-type: none"> • Proteínas líquido pleural/ Proteínas suero >0,5 • LDH líquido pleural/LDH suero >0,6 • Valor de LDH líquido pleural superior a dos tercios del límite superior de referencia de la LDH sérica. ❖ Para identificación de derrame tipo trasudativo utilizar mejor: <ul style="list-style-type: none"> • Gradiente de albúmina (albúmina suero – albúmina líquido pleural) • Gradiente de proteínas (proteínas totales suero – proteínas totales LP) • Amilasa: se asocian a pancreatitis, ruptura esofágica, neoplasia maligna, neumonía y cirrosis hepática. • ADA: alta sospecha de derrame tuberculoso (>35-40 UI/L; por encima de 45 U/L tienen una sensibilidad del 97 %). • Colesterol y TAG: concentraciones de triglicéridos superiores a 110 mg/dL y de colesterol inferiores a 200 mg/dL son diagnósticas de quilotórax; si colesterol es >200 mg/dL y triglicéridos <50 mg/dL el diagnóstico será pseudoquilotórax.

Tabla 2: Análisis del líquido pleural. Elaboración propia.

2.2. LÍQUIDO ASCÍTICO (LA)

Se produce en la cavidad abdominal para lubricar la superficie del tejido que recubre la pared abdominal y la cavidad pelviana, y cubre la mayoría de los órganos del abdomen. Es un ultrafiltrado del plasma. La extracción del líquido ascítico se realiza mediante paracentesis abdominal, pudiendo tener finalidad diagnóstica y/o evacuadora.

Principales determinaciones analíticas en LA:

<p>Examen macroscópico</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Aspecto (claro/transparente, turbio, lechoso/opalescente, purulento, etc.) y color (amarillo claro/anaranjada/verdoso, hemático, blanquecino, etc.). <p>LA normal: transparente y de color amarillo claro.</p>
<p>Examen microscópico</p>	<p>Recuento celular: valores normales 0-250 leucocitos/μl.</p> <ul style="list-style-type: none"> • 300-500 leucocitos/μl: si predominan polimorfonucleares es indicativo de derrame infeccioso. Si predominan mononucleares orienta a cirrosis, alteración cardíaca o nefrótica. • >500 leucocitos/μl: si predominan polimorfonucleares es indicativo de peritonitis bacteriana espontánea. Si predominan mononucleares orienta a neoplasia. • >10000 leucocitos/μl: es indicativo de peritonitis bacteriana secundaria. <p>Otras células: macrófagos, células mesoteliales (gran tamaño), células neoplásicas.</p>
<p>Estudio bioquímico</p>	<ul style="list-style-type: none"> • pH: <7,35 junto con $\text{pH}_{\text{arterial}} - \text{pH}_{\text{líquido ascítico}} > 0,1$ es típico de las peritonitis bacterianas. • Glucosa: el valor de referencia (80-100 mg/dl) es similar al plasma. Disminuida en peritonitis tuberculosa, carcinomatosis peritoneal y trasudados. • Proteínas: >3 g/dL es indicativo de <i>exudado</i> (neoplasia, peritonitis bacteriana secundaria, alteraciones cardíacas o pancreáticas) mientras que resultados <3 g/dL suelen corresponder a derrames tipo <i>trasudado</i> (cirrosis, peritonitis bacteriana espontánea, nefrosis). • LDH: el valor de referencia está entre 44-88 UI/L. Los niveles suelen ser inferiores a la mitad de la concentración presente en suero y aumentan en la peritonitis bacteriana. • Amilasa: valor de referencia en líquido ascítico 12,5-75 UI/L. • Triglicéridos: como referencia la concentración debe ser inferior a 200 mg/dl, valores superiores informan de ascitis quillosa. El colesterol también se usa junto con los triglicéridos para apoyar el diagnóstico de ascitis quillosa. Además, el aumento de colesterol en líquido ascítico se ha descrito como sugestivo de ascitis maligna. • Bilirrubina: la concentración normal es <6 mg/dl, valores superiores indican la presencia de bilis en la cavidad peritoneal (coleperitoneo) causada por la ruptura de la vesícula biliar o también por perforación intestinal. • ADA: suelen encontrarse valores superiores a 33 UI/ml en pacientes con tuberculosis.

	<ul style="list-style-type: none"> • Creatinina y urea: cuando se sospecha extravasación de orina a la cavidad peritoneal o rotura de la vejiga urinaria (al tomar muestra del líquido de la cavidad peritoneal puede pincharse la vejiga) pueden tener utilidad estas determinaciones. • Si orina: Creatinina orina > 2 x Creatinina plasma Urea orina > Urea plasma o Urea ascítico • Si LA: Creatinina ascítica < 2 x Creatinina orina Urea ascítica < Urea orina
--	--

Tabla 3: Análisis del líquido ascítico. Elaboración propia.

2.3. LÍQUIDO PERICÁRDICO(LPc)

El pericardio es un saco que envuelve el corazón formado por dos capas, una capa adherida al epicardio (pericardio visceral) y otra capa fibrosa que lo separa de los órganos del mediastino anterior (pericardio parietal). El líquido pericárdico es un ultrafiltrado del plasma proveniente de los vasos de las serosas. La técnica para extraer el LPc se denomina pericardiocentesis.

- **Principales causas** del derrame pericárdico: infecciones bacterianas o víricas, traumatismos, fármacos (procainamida, hidralazina, fenitoina, isoniacida, anticoagulantes) u origen metastásico (mesotelioma, cáncer de pulmón, cáncer de mama, linfoma, melanoma). También el derrame puede surgir como causa secundaria, de origen vascular (disección aórtica ó rotura de otra arteria, secundaria a un infarto de miocardio), debido a mixedema o nefropatía, o en relación a enfermedades autoinmunes (lupus sistémico, esclerodermia, dermatomiositis, artritis reumatoide, vasculitis sistémicas).
- **Principales determinaciones analíticas en LPc:**

Examen macroscópico	Aspecto (turbio, lechoso, etc.) y color (claro, hemático, blanquecino, etc.). LPc normal: es de color amarillo pálido, claro y no debe coagularse.
Examen microscópico	<ul style="list-style-type: none"> • Recuento celular: el recuento normal es alrededor entre 0-15 leucocitos/μl, así como de 0-15 hematíes/μl. La mayoría de los derrames no inflamatorios tienen una concentración de leucocitos inferior a 1000/μl, mientras que los derrames inflamatorios habitualmente tienen recuentos de leucocitos superiores a 1000/μl. Si los leucocitos son superiores a 10000/μl suele ser indicativo de pericarditis bacteriana, tuberculosa, o neoplásica.

Estudio bioquímico	<ul style="list-style-type: none"> • pH: habitualmente pH<7 en los exudados purulentos y en los derrames asociados a enfermedad reumática. En los derrames tipo trasudado el valor del pH normalmente es similar al pH fisiológico. • Glucosa: la cantidad de glucosa es igual que la del plasma. La glucosa está disminuida en los líquidos inflamatorios (<40 mg/dl en infección bacteriana o tuberculosa, enfermedad reumática o neoplasias). • Proteínas: el derrame se clasifica según su contenido proteico en trasudado (proteínas <2 g/dL) y exudado (proteínas > 2 g/dL). • LDH: se utiliza como marcador de inflamación, por lo que las mayores elevaciones corresponderán a los derrames tipo exudado, donde habitualmente alcanza valores superiores a 200 UI/L (y un ratio líquido/suero >0,6). • ADA: ante la sospecha de un derrame tuberculoso (>40 UI/L).
---------------------------	--

Tabla 4: Análisis del líquido pericárdico. Elaboración propia.

3. LÍQUIDO SINOVIAL (LS)

El líquido sinovial es un dializado de plasma mezclado con ácido hialurónico (proveniente de las células B de la membrana sinovial). Se produce por ultrafiltración vascular en el tejido sinovial, a nivel de la membrana sinovial. La cavidad articular carece de membrana basal y no contiene células epiteliales. Las funciones de la membrana y del líquido son aportar nutrientes al cartílago articular, lubricar y evacuar de la cavidad los residuos.

La obtención se realiza por artrocentesis con una jeringa sin anticoagulante. Para el recuento celular, es preferible enviar la muestra en contenedor con EDTA-K3. La finalidad del estudio del líquido sinovial es ayudar al diagnóstico de las enfermedades reumatológicas e infecciosas que afectan a las articulaciones.

- **Principales causas:** por trastornos de la membrana (artritis reumatoide, artritis infecciosa y gota) o por trastornos en los elementos de sostén (artrosis, lesión de meniscos y ligamentos).
- **Principales determinaciones analíticas en LS:**

Clasificación	<ul style="list-style-type: none"> • Mecánicos no inflamatorios: en artropatías postraumáticas, osteocondritis o artrosis. Color amarillo claro, $0.2-2 \times 10^9$ leucos/L, PMN<25% y proteína<3g/dL. • Inflamatorios: gota, pseudogota o enfermedad del tejido conjuntivo. Color turbio, $2-50 \times 10^9$ leucos/L, proteína>3g/dL. Puede haber cristales. • Sépticos: en artritis infecciosas. Color turbio, $50-100 \times 10^9$ leucos/L con 90%PMN. Gram y cultivo suelen ser positivos.
----------------------	---

<p>Examen macroscópico</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Aspecto (turbio, lechoso, etc.), color (claro, hemático, blanquecino, etc.) y viscosidad (reflejo del grado de polimerización del ácido hialurónico). • LS normal: amarillo claro, muy viscoso y no coagula. 																																																								
<p>Examen microscópico</p>	<p>Recuento celular: realizar de inmediato para evitar labilidad. Se utiliza para valorar el diagnóstico de infección articular. Si se necesita diluir, utilizar suero fisiológico.</p> <p>Clasificación en grupos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • No patológico: no contiene eosinófilos, basófilos ni hematíes en el LS normal. • Grupo I: artrosis, artritis traumática y patología articular neurógena. Hay una proporción normal de polimorfonucleares y aumento de mononucleares. • Grupo II: fases iniciales de fiebre reumática, artritis reumatoide y LES. Aumento de polimorfonucleares (60% en gota y 75% en artritis reumatoide) • Grupo III: en gota, pseudogota y artritis reumatoide. • Grupo IV: hay una inmensa mayoría de polimorfonucleares. <p>Tabla 1. Características de los diversos tipos de líquidos sinoviales</p> <table border="1" data-bbox="492 1045 1360 1409"> <thead> <tr> <th></th> <th>No patológico</th> <th>Grupo 1 Mecánico</th> <th>Grupo 2 inflamatorio leve</th> <th>Grupo 3 inflamatorio</th> <th>Grupo 4 séptico</th> <th>Hemorrágico</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Aspecto</td> <td>Transparente</td> <td>Transparente</td> <td>Transparente</td> <td>Turbio</td> <td>Purulento</td> <td>Turbio</td> </tr> <tr> <td>Color</td> <td>Amarillo claro</td> <td>Amarillo claro</td> <td>Amarillo</td> <td>Amarillo</td> <td>Amarillo verdoso</td> <td>Pardo oscuro</td> </tr> <tr> <td>Viscosidad</td> <td>Alta</td> <td>Alta</td> <td>Alta</td> <td>Baja</td> <td>Baja</td> <td>–</td> </tr> <tr> <td>Leucocitos × 10⁹/L</td> <td>< 0,2</td> <td>0,2-2</td> <td>2-5</td> <td>5-50</td> <td>50-100</td> <td>–</td> </tr> <tr> <td>% neutrófilos</td> <td>–</td> <td>< 25</td> <td>< 50</td> <td>50-90</td> <td>> 90</td> <td>–</td> </tr> <tr> <td>Cultivo</td> <td>Negativo</td> <td>Negativo</td> <td>Negativo</td> <td>Negativo</td> <td>Positivo</td> <td>Negativo</td> </tr> <tr> <td>Glucosa (% respecto al suero)</td> <td>100%</td> <td>100%</td> <td>50-100%</td> <td>50-100%</td> <td><50%</td> <td>100%</td> </tr> </tbody> </table> <p>Tabla 5: Características del líquido sinovial, tomado del curso de formación continuada de AEFA.</p> <p>Estudio de cristales: es de gran importancia valorar su morfología y birrefringencia para identificarlos. Para ello, utilizar microscopio de luz polarizada. Se suelen encontrar:</p> <ul style="list-style-type: none"> • De urato monosódico (Birrefringencia negativa; forma de agujas o bastones; pacientes en crisis de gota). Tamaño de 3-40µm. Pueden presentarse dentro o fuera de las células blancas. Cuando la gota es crónica, puede ser difícil encontrarlos. Pueden encontrarse con otros cristales. 		No patológico	Grupo 1 Mecánico	Grupo 2 inflamatorio leve	Grupo 3 inflamatorio	Grupo 4 séptico	Hemorrágico	Aspecto	Transparente	Transparente	Transparente	Turbio	Purulento	Turbio	Color	Amarillo claro	Amarillo claro	Amarillo	Amarillo	Amarillo verdoso	Pardo oscuro	Viscosidad	Alta	Alta	Alta	Baja	Baja	–	Leucocitos × 10 ⁹ /L	< 0,2	0,2-2	2-5	5-50	50-100	–	% neutrófilos	–	< 25	< 50	50-90	> 90	–	Cultivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Glucosa (% respecto al suero)	100%	100%	50-100%	50-100%	<50%	100%
	No patológico	Grupo 1 Mecánico	Grupo 2 inflamatorio leve	Grupo 3 inflamatorio	Grupo 4 séptico	Hemorrágico																																																			
Aspecto	Transparente	Transparente	Transparente	Turbio	Purulento	Turbio																																																			
Color	Amarillo claro	Amarillo claro	Amarillo	Amarillo	Amarillo verdoso	Pardo oscuro																																																			
Viscosidad	Alta	Alta	Alta	Baja	Baja	–																																																			
Leucocitos × 10 ⁹ /L	< 0,2	0,2-2	2-5	5-50	50-100	–																																																			
% neutrófilos	–	< 25	< 50	50-90	> 90	–																																																			
Cultivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo																																																			
Glucosa (% respecto al suero)	100%	100%	50-100%	50-100%	<50%	100%																																																			

	<ul style="list-style-type: none"> • De pirofosfato (Birrefringencia positiva; forma de bastones cortos, rectangulares o cuadrados pequeños; episodio agudo de condrocalcinosis, pseudogota). Tamaño de 2-20µm. • De hidroxapatita (No presentan birrefringencia; artropatía degenerativa). Tamaño de 0.5-10µm • De lípidos (birrefringencia positiva en cruz de malta; artritis reumatoide), tamaño 2-8 µm. Están formados por múltiples capas de fosfolípidos, colesterol y agua. • De colesterol (Birrefringencia positiva o negativa; grandes y cuadrados con una muesca; en AR, LES). Tamaño de 8-100µm. • De oxalato cálcico (Forma de cuadrado bipiramidal, irregulares, bastones cortos u ovalados; pacientes hemodializados). Tamaño de 5-30µm. • De Charcot-Leyden: (Forma de puro; poco comunes, en pacientes con sinovitis eosinofílica o eosinofilia asociada a vasculitis). Tamaño 17-25µm. • De hematoidina (Romboidea o rectangular; en pacientes con hemartrosis). Tamaño de 8-10µm. Deben observarse primero al microscopio de luz visible (color café u oro) y después polarizada (positiva o negativa).
<p style="text-align: center;">Estudio bioquímico</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Glucosa: valorar junto a la glucosa sanguínea. Si no está en ayunas y los valores son ½ del suero puede deberse a una artritis séptica. Si los valores son ½-1, sugieren inflamación. • Proteínas totales: se eleva cuando aumenta la permeabilidad vascular, siendo su elevación proporcional a la intensidad de la inflamación. La cantidad que contiene es escasa 1-2g/dL. En el líquido mecánico la cantidad es similar a la normal, en el inflamatorio >2.5g/dL y en el séptico >3g/dL. • Ácido láctico: elevado en artritis sépticas por gérmenes piógenos. Su disminución junto con aumento de glucosa y reducción del recuento celular puede utilizarse para controlar la eficacia del tratamiento antibiótico.

Tabla 6: Análisis del líquido pericárdico. Elaboración propia.

4. LÍQUIDO AMNIÓTICO(LAm)

- ❖ El líquido amniótico es producto del metabolismo fetal, los componentes presentes en él proporcionan información sobre los procesos metabólicos que se producen durante el proceso de maduración fetal.
- ❖ Este líquido se encuentra en el amnios, saco membranoso que rodea al feto. Las funciones principales son: proteger al feto, permitir el movimiento fetal y permitir

el desarrollo pulmonar correcto. La recolección de la muestra se realiza por amniocentesis.

- ❖ El volumen de líquido amniótico varía a lo largo del embarazo. Un volumen superior a 1200mL se denomina polihidramnios (en sufrimiento fetal, anomalías estructurales fetales, arritmias cardíacas, infecciones congénitas o anormalidades cromosómicas); mientras que inferior a 800mL es denominado oligohidramnios (en aumento de la deglución fetal, deformidades en las vías urinarias, pérdida de líquido por las membranas o malformaciones congénitas).
- ❖ El procedimiento de amniocentesis se puede realizar con fines diagnósticos (estudios genéticos, evaluar madurez fetal, infección...) o con fines terapéuticos (polihidramnios). Las complicaciones asociadas incluyen rotura de membranas, lesión fetal, infección y pérdida fetal.
- ❖ En el laboratorio clínico, las determinaciones analíticas de mayor interés: α -fetoproteína (defectos en el tubo neural), bilirrubina (enfermedad hemolítica), lípidos (madurez pulmonar fetal), glucosa (infección), entre otras.

5. OTROS

5.1. Saliva

La saliva lubrica la cavidad oral y ayuda a la masticación y digestión de los alimentos. Este fluido se produce como un ultrafiltrado del plasma por las glándulas salivales (parótidas, submandibulares y sublinguales) ubicadas alrededor de la cavidad oral. Los adultos sanos producen de 500 a 1500 ml de saliva al día.

Las ventajas de la saliva como muestra diagnóstica son que puede ser recogida de manera no invasiva, rápida, fácil y segura. Después de tomar la muestra, debe almacenarse adecuadamente para evitar el crecimiento bacteriano y la degradación de las proteínas y para mantener la integridad de la muestra.

Principales determinaciones: análisis de drogas de abuso y etanol, determinación de fármacos, cortisol salival, esteroides sexuales en saliva, incluidos estradiol y progesterona, y análisis de proteínas salivales.

5.2. Sudor

Principal determinación: cuantificación de iones de cloro (técnica gold estándar) para confirmar el diagnóstico de fibrosis quística (FQ) (tabla 7) que se origina por la disfunción de la proteína reguladora de conductancia transmembrana (CFTR), un canal de Cl⁻ de la superfamilia del transportador ABC.

Edad	Probabilidad baja de Fibrosis Quística	Probabilidad intermedia de Fibrosis Quística	Indicativo de Fibrosis Quística
0-6 meses	≤29 mmol/L	30-59 mmol/L	>60 mmol/L
>6 meses	≤39 mmol/L	40-59 mmol/L	>60 mmol/L

Tabla 7: umbrales diagnósticos de FQ. Tomada del curso de formación continuada de líquidos biológicos de AEFA.

6. RECUENTO CELULAR E INDICACIONES DEL ANÁLISIS CITOLÓGICO EN UN LÍQUIDO BIOLÓGICO.

- ❖ El recuento de hematíes y de células nucleadas en los líquidos biológicos, y cuando su concentración se encuentra por debajo de los límites de detección del autoanализador, se realiza mediante una cámara cuenta glóbulos (hemocitómetro). El modelo más utilizado es el de Neubauer con un retículo constituido por 9 cuadros grandes de 1 mm² de superficie cada uno.
- ❖ La realización de una citocentrífuga para el análisis citológico de los líquidos biológicos está indicada cuando el recuento celular en líquido ascítico o pleural supere la cifra de 250 células/ mm³. En el LCR, la citocentrífuga estará indicada cuando la cifra de células sea igual o superior a 10 células/μL.

6.1. Células benignas en líquidos biológicos:

Características morfológicas de las células normales que pueden observarse al analizar los líquidos serosos:

6.1.1 Células mesoteliales

- Forma redondeada.
- Tamaño variable entre 10 y 30 μ con moderada-baja relación núcleo-citoplasma, núcleo central o ligeramente excéntrico de contorno redondeado, y cromatina poco condensada.
- El citoplasma es amplio y basófilo.
- Suelen mostrar poca cohesión y en ocasiones pueden observarse algunas figuras mitóticas, sin que su presencia signifique malignidad. Las mitosis son más frecuentes acompañando a células mesoteliales de aspecto reactivo.
- La presencia de vacuolas en el citoplasma constituye un signo de degeneración precoz. En estos casos, en ocasiones puede resultar difícil su diferenciación con un macrófago.

Las células mesoteliales pueden verse en los líquidos pleural, ascítico y pericárdico, y su morfología muestra una cierta heterogeneidad. Pueden verse aisladas o formando algún agregado. Suelen descamarse hacia los líquidos serosos sin que su presencia indique algún tipo de patología.

6.1.2 Macrófagos

- Tamaño mediano-grande.
- Núcleo excéntrico de cromatina poco condensada y contorno redondeado.
- Citoplasma pálido, de aspecto *espumoso*, debido a que contiene vacuolas, y contornos poco definidos. En ocasiones presenta una única vacuola que desplaza al núcleo. Puede presentar restos de partículas fagocitadas.
- Suelen verse elementos aislados.

El denominado sistema mononuclear fagocítico (SMF) está constituido por las células precursoras monocíticas de la médula ósea, los monocitos circulantes en sangre periférica y a nivel de los tejidos, estos se diferencian a macrófagos e histiocitos. Así, en los líquidos veremos macrófagos y en sangre periférica monocitos. La presencia de monocitos en un líquido nos sugiere que sea hemorrágico, lo que confirmaremos al observar la presencia de hematíes y otras células sanguíneas. En ocasiones el citoplasma del macrófago presenta una única vacuola que desplaza al núcleo. Más frecuentemente el macrófago suele presentar en el citoplasma restos de partículas fagocitadas.

6.2. Células neoplásicas en líquidos biológicos

Los tumores metastásicos son una causa frecuente de derrame. El mecanismo de ellos se debe a la obstrucción de los vasos linfáticos de drenaje provocada por las metástasis ganglionares. En los derrames pleurales las células neoplásicas más frecuentes que pueden observarse son las de pulmón y mama. En los derrames peritoneales las células tumorales que predominan son las que corresponden a neoplasias del tracto gastrointestinal y ovario.

Su observación en el estudio citológico es de una gran utilidad diagnóstica puesto que permite en numerosas ocasiones orientar el diagnóstico de forma rápida, facilitando el manejo posterior del paciente.

❖ Características morfológicas típicas de malignidad de las células neoplásicas:

- Tendencia a agruparse y formar “nidos celulares”.
- El citoplasma de las células neoplásicas suele confluir, es lo que se denomina “tendencia del citoplasma celular a constituir sincitio”.
- *Canibalismo* de las células neoplásicas: facilidad para fagocitar otras células también neoplásicas.
- Presencia de mitosis anómalas.
- Pleomorfismo celular con predominio de células de muy gran tamaño.

- Relación núcleo/citoplasma aumentada.
- Con frecuencia binucleadas o multinucleadas
- Núcleo de cromatina laxa e inmadura con presencia de nucleolos marcadamente visibles.
- Intensa basofilia citoplasmática.
- Contenido de vacuolas en uno de los polos del citoplasma.

Las neoplasias hematológicas también pueden infiltrar a los diferentes líquidos biológicos, por y presentan determinadas características morfológicas de las células neoplásicas no-hematológicas citadas anteriormente. Actualmente se dispone de la citometría de flujo, técnica mediante la que a través de determinadas combinaciones con anticuerpos monoclonales es posible conocer la estirpe de las células proliferantes que infiltran el líquido (B, T, células plasmáticas atípicas, linfoma de células grandes...).

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Díaz B, Gafas A.P, Laporta R, et al. *Protocolo diagnóstico del derrame pleural*. MEDICINE 2006; 9(67): 4334-4336.
2. Villena Garrido V, Cases Viedma E, Fernández Villar A, de Pablo Gafas A, Pérez Rodríguez E, Porcel Pérez JM, et al. Normativa SEPAR. Normativa sobre el diagnóstico y tratamiento del derrame pleural actualización. Arch Bronconeumol. 2014;50(6):235-49.
3. Noguera A, Galán A, Guillén E et al. Recomendaciones para el estudio de líquidos biológicos serosos en el laboratorio de urgencias. Química Clínica 2004; 23:141-5.
4. Morgues J. Análisis de los líquidos biológicos serosos de la cavidad pleural, pericárdica y peritoneal. FC AEFA 2006; 7: 1-20.
5. Merino A. Manual de Citología de Sangre Periférica. Ed Acción Médica. Madrid, 2005.
6. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI. Body fluid analysis for cellular composition; Aproved guideline. CLSI document H56-A; 2006.
7. Padrós Soler G. et al. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Recomendaciones para el estudio del líquido sinovial. Química Clínica 2004; 23(6) 434-438.
8. Martínez-Castillo A. et al. Análisis del líquido sinovial. Reumatol Clin. 210;6 (6) 316-321.
9. Jorge Gómez J.J. Líquido sinovial: Diagnóstico de las artritis por microcristales. FC AEFA 2005.

CAPÍTULO 10. MICROBIOLOGÍA

Carolina Vilchez Medkouri ^{1*}

¹ Residente de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Madrid.

1. INTRODUCCIÓN

En el laboratorio de urgencia nos podemos encontrar ante una serie de situaciones microbiológicas que precisan de una respuesta rápida y que por tanto no pueden demorarse, como puede ser el informe de determinados cultivos y el análisis de muestras que por su posible gravedad o capacidad de transmisión lo requieran y así poder reducir la morbimortalidad que implican estas enfermedades infecciosas.

El objetivo del presente capítulo es facilitar al lector unas pautas sobre cómo se podría obrar en estas situaciones para ayudar al clínico en el manejo del paciente.

El laboratorio de urgencias dispone de ciertas técnicas que pueden orientar al diagnóstico etiológico del proceso infeccioso, como son: microscopía directa, tinciones diferenciales, detección antigénica o genética del microorganismo y la detección de anticuerpos frente a estos.

La recogida correcta de la muestra y el envío rápido al laboratorio son esenciales para la mejora del diagnóstico. Se deberán trabajar las muestras siempre con guantes y en campana de seguridad

Método	Objetivo	Tipo de muestra
Tinción de gram	Bacterias y hongos	Cualquiera
Prueba KOH	Hongos	Piel, respiratorias y otras según demanda
Blanco de calcoflúor	Hongos	Cualquiera
Tinta china	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Líquido cefalorraquídeo
Tinción Gomori-Grocott modificada	<i>Pneumocystis jiroveci</i>	Respiratorias
Gota gruesa y extensión de sangre	<i>Plasmodium</i>	Sangre total en EDTA
Tinción de auramina	<i>M. tuberculosis</i>	Espuito

Inmunocromatografía	Múltiples antígenos, anticuerpos y toxinas	Muestras líquidas o licuificables
Serología	Antígenos y anticuerpos	Suero y plasma
Reacción en cadena de la polimerasa	Amplificación bacterias, virus, protozoos, hongos	Cualquiera con su debido tratamiento

Tabla 1. Tipos de técnicas para cada microorganismo y tipo de muestra apta. Elaboración propia.

1.1 Tinción de gram urgente

Esta técnica puede ser solicitada por el clínico o bien realizarse a decisión del laboratorio ante los hallazgos observados en los líquidos biológicos analizados.

Permite diferenciar entre bacterias gram positivas de color morado y gram negativas de color rosado, las bacterias gram positivas tienen una pared gruesa compuesta de peptidoglucanos y polímeros e impermeable que hace que resista la decoloración, mientras que la de las bacterias gram negativas es más delgada y por ello se decolora tiñéndose posteriormente con safranina.

Puede realizarse sobre la muestra directamente o bien sobre una colonia ya crecida en un medio de cultivo, gracias a la implementación de la espectrofotometría de masas apenas se realiza el gram de colonias ya que en el mismo tiempo se puede obtener la tipificación del organismo.

La técnica puede estar automatizada mediante un teñidor que se utilizaría según las especificaciones del equipo o bien realizarse de forma manual, para esto habría que disponer de los siguientes reactivos:

- Cristal violeta
- Lugol
- Decolorante alcohol - acetona
- Safranina

Los pasos a seguir serían los siguientes:

1.- Fijar la muestra, sirve para evitar que, al teñir la muestra, esta se desprenda. Se extiende la muestra o una colonia resuspendida en suero salino sobre un portaobjetos y se fija esperando a que se seque, con calor, con etanol o metanol.

2.- Se cubre la preparación con Cristal violeta y se deja durante 1 minuto, tras lo cual debe lavarse con agua de forma que no impacte directamente o la muestra se desprenderá.

3.- Se cubre la preparación con Lugol durante 30 segundos y se lava.

4.- Se cubre la preparación con alcohol-acetona durante 30 segundos para decolorar.

5.- Se cubre la preparación con Safranina durante 1 minuto y se lava.

6.- Se deja secar la muestra en posición inclinada, en torno a 70° para evitar que se dañe la preparación.

La muestra está lista para ser visualizada, para ello la enfocaremos en el microscopio con el objetivo de 10x o 20x, luego a 40x y por último se deposita una gota de aceite de inmersión y se observa a 100x donde podremos ver las bacterias teñidas de color morado o rosado con forma de cocos, es decir redondeadas, bacilos, serían como bastoncillos, o coco bacilos, una forma intermedia.

A su vez los cocos pueden estar agrupados en diplos, cadenas o racimos, mientras que los bacilos pueden aglomerarse pero no son formaciones como tal. También pueden observarse hongos, ya que se tiñen con cristal violeta y se pueden distinguir por su morfología así como por formar hifas y pseudohifas.

En el anexo Z se encuentran imágenes de tinción gram.

Una vez conocemos la tinción de gram de la muestra solicitada de urgencia o realizada en un líquido biológico en el que consideremos necesaria realizarla, deberemos informar del resultado al facultativo peticionario.

En el caso de los hemocultivos, se ha de proceder con cautela a la hora de informarlos y se realizará cómo se haya acordado en el propio centro, no obstante, suele haber unas pautas comunes como que los bacilos gram negativos se informan con un único frasco de una extracción positiva y el resto de hallazgos en el gram, deben valorarse según la historia clínica, número de extracciones positivas y especie hallada, ya que si tenemos un caso con 3 frascos positivos en el que ha crecido en cada uno ha crecido una especie diferente será una contaminación y no se informará igual que no se informarán las especies que sean contaminantes habituales de las muestras a menos que la historia clínica lo respalde.

2. MICOSIS

Las micosis, en especial aquellas invasivas, poseen un carácter urgente debido a su gravedad intrínseca, así como debido a que suelen ocurrir en pacientes inmunosuprimidos, pluripatológicos, postquirúrgicos o con catéteres centrales entre otras. Para su valoración urgente se dispone de las siguientes técnicas:

- Examen microscópico, método rápido y simple, pero con múltiples limitaciones: un examen negativo nunca descarta una infección fúngica, pueden tener falsos positivos como en el caso de las contaminaciones, tiene una baja sensibilidad, es difícil identificar la especie fúngica y no permite la realización de estudios de sensibilidad a los antifúngicos.
- Tinción de gram, ya explicada anteriormente.

- Prueba de hidróxido de potasio o KOH al 10 por ciento: consiste en poner en contacto la muestra en el portaobjetos con una gota de hidróxido de potasio, al reaccionar permitirá la visualización de hifas o pseudohifas. Esta técnica se puede utilizar con muestras sólidas como trozos de tejido y muestras líquidas como en el caso del lavado broncoalveolar.



Figura 1: Hifas de *Aspergillus*. Fuente: www.life-worldwide.org

- Blanco de calcoflúor: se añade una gota de calcoflúor y una gota de KOH al 20% sobre la muestra en un portaobjetos y se calienta la preparación. El blanco de calcoflúor tiene una gran afinidad por las uniones beta-glucosídicas presentes en los hongos y se observa fluorescencia al microscopio.

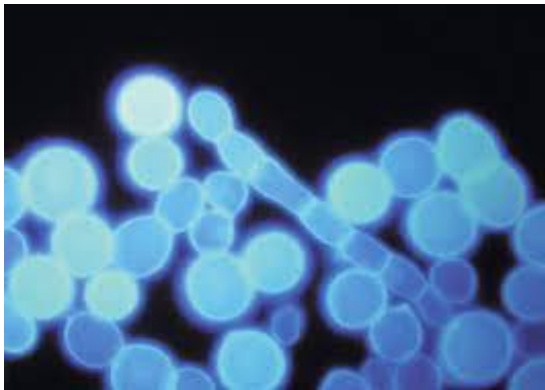


Figura 2: Hifas de *B. Dermatiditis*. Fuente: Llovo, Jose & Ponton, J. 2007. *Diagnóstico microscópico de las micosis. Revista Iberoamericana de Micología*. ISBN 978-84-611-8776-8

- Tinta china: se utiliza mayormente en muestras de líquidos cefalorraquídeos. Se dispensa una gota de tinta china sobre la muestra en el portaobjetos y se visualiza en busca de forma redondeadas sugestivas de *Cryptococcus neoformans*.

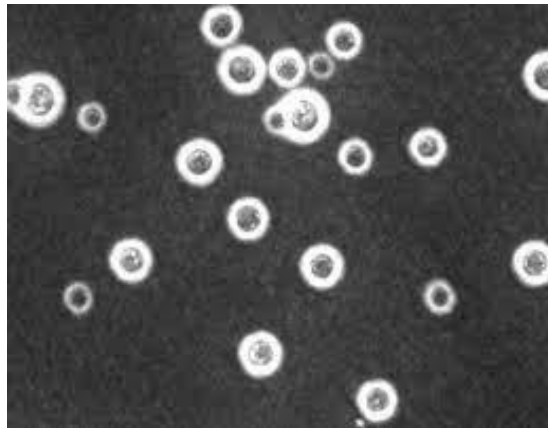


Figura 3: *Cryptococcus neoformans*. Fuente: www.cram.com/flashcards

- Tinción Gomori-Grocott modificada, sirve para buscar los quistes de *Pneumocystis jiroveci* que se visualizarían como pasas o formas redondeadas en doble coma de color gris o marrón oscuro.

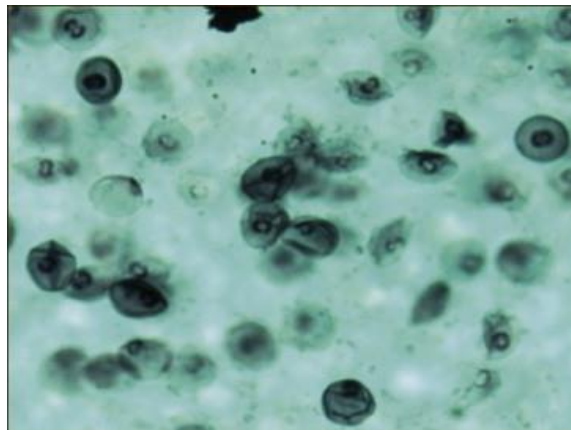


Figura 4: *Pneumocystis jiroveci*. Alfredo Jalilie E.2015. Aproximación diagnóstica a las enfermedades pulmonares difusas. Revista médica clínica las condes,26(3), 285-291. doi:10.1016/j.rmclc.2015.06.005

3. SEROLOGÍA URGENTE

La serología urgente, se determina en una muestra de suero del paciente y se suelen realizar en partos no controlados, diálisis o trasplantes y se llevará a cabo dicha prueba en los casos que determine la cartera de Urgencias de cada hospital.

La serología urgente suele comprender el virus de la hepatitis C (VHC), virus de la hepatitis B (VHB) y virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

- VHC: Se evalúa Anti VHC, anticuerpos contra el VHC, que indica infección, pero no distingue entre aguda y crónica.
- VHB: Se evalúa HBsAg, antígeno de superficie del virus de la hepatitis B, su presencia indica que existe una infección y es el indicador más precoz, apareciendo en fase

presintomática.

- VIH: Se evalúan anticuerpos frente a VIH1 y 2 y frente al antígeno p24. Los anticuerpos frente a VIH 1 y 2 presentan un período ventana de unas 3-12 semanas y su utilidad radica en identificar la variante de VIH presente, siendo en nuestro medio más frecuente el VIH-1, mientras que el antígeno p24 aparece antes y permite diagnosticar de forma precoz.

Se pueden realizar mediante ELISA de tercera y cuarta generación en equipos automatizados o bien mediante técnicas rápidas inmunocromatográficas (técnica inmunológica que permite visualizar la reacción antígeno-anticuerpo mediante la acumulación del oro coloidal del conjugado en zonas específicas del papel de nitrocelulosa, donde se han fijado previamente anticuerpos de captura), los criterios de validación son según la técnica, pero se informa generalmente como positivo o negativo aunque hay ELISA que permiten diferenciar entre negativo, positivo bajo y positivo alto.

En el caso de los ELISA cuando el valor sea mayor o menor al *cut off* de la técnica y los controles estén dentro de rango, se puede validar.

En el caso de las técnicas inmunocromatográficas se puede aceptar el resultado si aparece la línea de control y se valora en el tiempo especificado, ya que de dejarse menos tiempo puede no observarse la línea y ser un falso negativo y de estar más tiempo aparecer falsos positivos



Figura 5: Inmunocromatografía. Insert de Green Spring.

4. TÉCNICAS RÁPIDAS

En el apartado de técnicas rápidas tenemos múltiples opciones según las casas comerciales con las que se trabajen. Por lo general estas pruebas tienen en común que se tratan de inmunocromatografías que ofrecen resultados en un período de tiempo relativamente

corto e inferior a una hora. Deben realizarse según las instrucciones del fabricante y a la hora de validarlas se aplica el mismo criterio que en el apartado previo.

Las técnicas rápidas se suelen utilizar para la detección de virus gastrointestinales como el rotavirus, la detección de la toxina de *Clostridium difficile*, para detectar antígenos de malaria en sangre, detectar neumococo y legionella en orina entre otras.

5. MALARIA

La malaria se produce por un parásito intraeritrocitario transmitido por la picadura de mosquitos infectados. Existen cinco especies capaces de infectar al ser humano: *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* y *P. knowlesi*. Es relevante su diagnóstico urgente por la potencial gravedad del cuadro clínico que genera al destruir los hematíes generando anemia y visceromegalia. Para su diagnóstico urgente se puede recurrir a diversas técnicas.

- Gota gruesa y extensión de sangre: la gota gruesa es la prueba *gold standard* para el diagnóstico de malaria y permite calcular el nivel de parasitemia, no obstante, es difícil de interpretar, se necesita de un gran entrenamiento y al depender de la cantidad de parásitos presentes, puede ser negativa y aun así el paciente sufrir de la patología. Si sigue existiendo sospecha se debe realizar otra a las 12-24 horas y una tercera a las 48 horas antes de excluir el diagnóstico. La extensión de sangre se puede utilizar igualmente a estos efectos, aunque su sensibilidad es 30 veces menos a la gota gruesa.

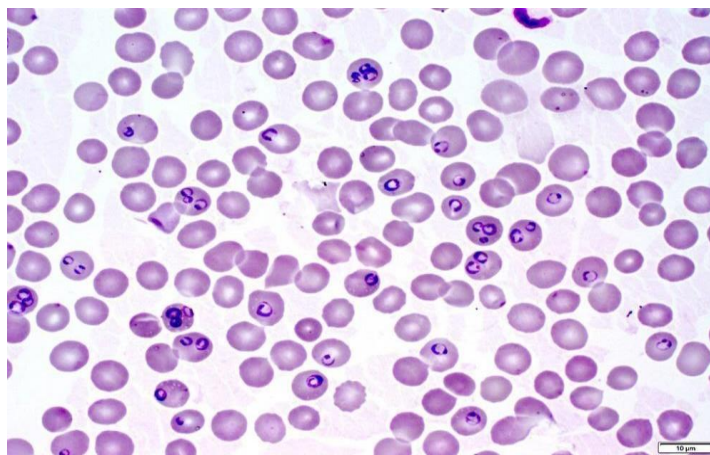


Figura 6: *Plasmodium falciparum*. Fuente: www.cram.com/flashcards

- Antígenos palúdicos: se realiza una inmunocromatografía que posee bandas de anticuerpos monoclonales específicos frente al antígeno que se busca, en su mayoría buscan la proteína rica en histidina 2, HRP-2, generada por *P. falciparum* y la pan-aldolasa. Esta técnica muestra su mayor utilidad con *P.falciparum* y *P.vivax* siendo los resultados en otras especies altamente variables, igualmente aún en presencia de positividad exige la realización posterior de la gota gruesa.

- Serología: no son útiles para el diagnóstico de un caso agudo al mantener durante un año la positividad.
- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): útil para el diagnóstico, aunque puede ser positiva tras la resolución de la infección en caso de quedar restos de material genético en el organismo. Es la única prueba disponible para *P. knowlesi*. Generalmente la diana de amplificación es la subunidad 18S del ARNr y puede realizarse mediante amplificación diseñando *primers* propios y el programa en un termociclador o bien, mediante kits de PCR, las cuales proporcionan una respuesta en torno a 1 hora. Para ambas se seguirían los protocolos propios del hospital.

6. TUBERCULOSIS

La tuberculosis es una enfermedad producida por la infección del ser humano por el bacilo de Koch que es la bacteria *Mycobacterium tuberculosis*. Su clínica es mayoritariamente pulmonar, aunque existen formas extrapulmonares.

Para su diagnóstico se precisa de una muestra de esputo, sobre la cual se pueden realizar de urgencias distintas técnicas diagnósticas.

- Tinción de auramina, esta tinción dota de un color dorado a los bacilos al observarse en un microscopio de fluorescencia, estos bacilos tienen una forma bastoneada. Una tinción negativa no descarta la existencia de *M. tuberculosis*:
 - Una parte del esputo debe fijarse con calor en portaobjetos, a continuación, se tiñe durante 15 minutos el portaobjetos con auramina-rodamina asegurándose que toda la superficie queda cubierta.
 - Se aclara con agua estéril el portaobjetos evitando el choque directo sobre la muestra y se añade decolorante durante 2 minutos.
 - Por último se añade contracolorante durante 2 minutos, se aclara y se deja secar.

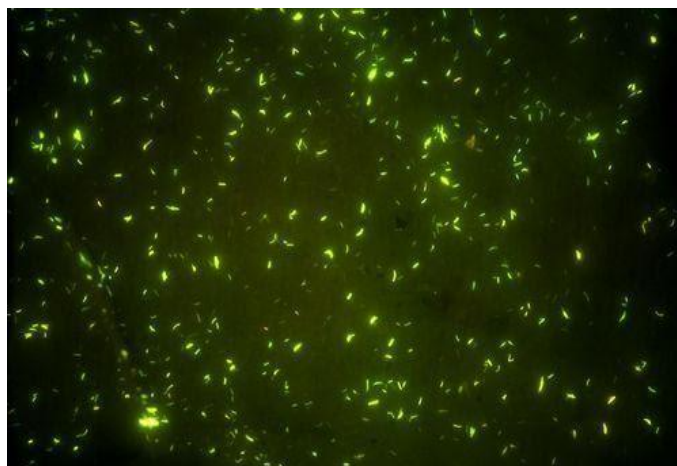


Figura 7: Bacilos de Koch de *M. tuberculosis*. Fuente: www.medicalexpo.fr

- PCR, supone un gran avance diagnóstico y se caracteriza por su rapidez, sensibilidad y especificidad. En la actualidad hay multitud de reactivos de PCR que permiten valorar si se encuentra en la muestra e incluso si presenta resistencia a la rifampicina. La preparación de la muestra debe realizarse según el insert de cada kit así como la extracción e interpretación según la amplificación de los controles y de los genes de *M.tuberculosis*.

7. SARS-CoV-2

El virus SARS-CoV-2 pertenece al grupo de los coronavirus, desgraciadamente su fama se debe a su alta transmisibilidad y su capacidad para generar una respuesta inmune descontrolada que genera una tormenta de citoquinas. La clínica es variable, así como su gravedad por lo que en urgencias podrá haber casos asintomáticos que acudan por otra causa, pacientes con una clínica poco florida como anosmia y cefalea o pacientes más graves con disnea que precisa de soporte respiratorio, trombosis en extremidades y demás clínica potencialmente mortal.

Desde el laboratorio urgente se proveerán de dos tipos de pruebas, los tests de antígenos y la PCR, la serología no es útil para el diagnóstico urgente, aunque sí para el seguimiento.

Según el último protocolo del Ministerio de Sanidad, en los centros sanitarios y sociosanitarios son ambas pruebas válidas indistintamente, no obstante, cada una presenta sus limitaciones.

Test de antígenos, es una técnica inmunocromatográfica que detecta proteínas del virus, es una técnica que carece de utilidad en ausencia de síntomas y en caso de síntomas, a partir del quinto día ve reducida su sensibilidad. La interpretación del laboratorio es sencilla, positivo o negativo o bien repetir si la línea de control no aparece, el reto es su aplicación al caso clínico.

PCR, detecta el material genético del virus y su sensibilidad depende del gen amplificado, se utilizan por lo general alguno o varios de los siguientes 3 genes: el gen E de la envoltura, los genes RpRd de la ARN-polimerasa ARN-dirigida y N del nucleocápside. La interpretación varía según el punto de corte aplicado al número de ciclo de cada casa comercial a partir de la cual se considera negativa la amplificación, si uno o más genes han sido amplificados y a la forma de la curva generada, por ello debe ser una persona formada quien interprete estos resultados.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Rodríguez Díaz JC, Guna Serrano R, Larrosa Escartín N, Marín Arriaza M. Diagnóstico microbiológico de la bacteriemia y la fungemia: hemocultivos y métodos moleculares. 2017. Rodríguez Díaz JC (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2017
2. Álvarez-Martínez M J, Belhassen-García M, Flores-Chavez MD, Pérez de Ayala A, Sulleiro E. 2020. 69. Diagnóstico de parasitosis importadas en España. Álvarez-Martínez M J (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2020
3. Tangarife-Castaño, V., Flórez-Muñoz, S. and Mesa-Arango, A., 2015. Diagnóstico micológico: de los métodos convencionales a los moleculares. Medicina y Laboratorio, 21(5-6), pp.211-242
4. Cuenca Estrella, M., Gadea Gironés, I., Martín Mazuelos, E., Pemán García, J., Pontón, J. and Rodríguez Tudela, J., 2006. 21. Diagnóstico microbiológico de las micosis y estudios de sensibilidad a los antifúngicos. 1 ed. [ebook] Emilia Cercenado y Rafael Cantón.
5. Cantón Lacasa, E., García Rodríguez, J., Guinea Ortega, J., Martín Mazuelos, E. and Pemán García, J., 2012. 45. Métodos microbiológicos para el diagnóstico, manejo y estudio de la infección fúngica invasora. 1 ed. [ebook] Emilia Cercenado y Rafael Cantón.
6. González-Martín, J., García-García, J., Anibarro, L., Vidal, R., Esteban, J., Blanquer, R., Moreno, S. and Ruiz-Manzano, J., 2010. Documento de consenso sobre diagnóstico, tratamiento y prevención de la tuberculosis. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 28(5), pp.297.e1-297.e20.
7. Acosta Boga, B., Codina Grau, M., Matas Andreu, L. and Meseguer Peinado, M., 2011. 40. Diagnóstico microbiológico de las infecciones por Mycoplasma spp. y Ureaplasma spp.. 1 ed. [ebook] Emilia Cercenado y Rafael Cantón.
8. 2020. ESTRATEGIA DE DETECCIÓN PRECOZ, VIGILANCIA Y CONTROL DE COVID-19. [ebook]
9. Reina, J. and Suarez, L., 2020. Evaluation of different genes in the RT-PCR detection of SARS-CoV-2 in respiratory samples and its evolution in infection. Revista Española de Quimioterapia, 33(4), pp.292-293

CAPÍTULO 11. TEST RÁPIDOS

Laura de la Hoz Gil¹

¹ Residente de Bioquímica Clínica. Hospital Universitario Severo Ochoa, Madrid.

1. PRUEBA RÁPIDA DE EMBARAZO

1.1 Introducción

La prueba o test rápido de embarazo es una de las pruebas más solicitadas en Bioquímica de Urgencias debido a que cualquier mujer en edad fértil, antes de ser sometida a pruebas invasivas/radiológicas, debe ser confirmado que no está embarazada. Además, el embarazo será la primera sospecha en mujeres en edad fértil con amenorrea, dolor abdominal, náuseas, vómitos, si no hay un foco inicial que lo justifique.

La Gonadotropina Coriónica Humana (hCG) es una hormona glucoproteica producida por el tejido placentario tras la fecundación. En un embarazo sin alteraciones, podrá detectarse en suero, plasma u orina desde el 7º-10º día postconcepción. Los niveles de esta hormona irán aumentando hasta las semanas 10-12 de embarazo. Debido a este aumento tan rápido después de la concepción, lo hacen un marcador muy útil para conocer si hay embarazo o no, porque coincidirá con la primera falta menstrual en la mujer.

1.2 Muestra

Consiste en la detección cualitativa de la gonadotropina coriónica humana (hCG) en orina, suero o plasma. La muestra más solicitada, es la orina. Se puede usar una muestra de orina de cualquier momento del día, aunque la preferible es la de primera hora de la mañana debido a que tiene una mayor concentración de hCG. En caso de que sea una muestra turbia, centrifugar previamente.

1.3 Técnica

Es un inmunoensayo rápido cromatográfico. Se usa una combinación de anticuerpos monoclonales y policlonales. Tiene una sensibilidad suficiente como para no mostrar interferencias con otras hormonas estructuralmente similares como son la LH, FSH o TSH. La prueba consiste en dos líneas, el control y el resultado. En la línea control hay una combinación de anticuerpos policlonales, mientras que la de prueba un anticuerpo monoclonal hCG que detecta niveles elevados de la hormona. Al aplicar la muestra, ésta migrará produciendo un resultado u otro según su composición.

1.4 Realización

Se sumerge la tira en una concentración suficiente de orina (suele tener una marca indicativa) durante 3 minutos. No dejar más o menos tiempo del indicado por la casa comercial, porque puede falsear los resultados.

1.5 Interpretación

(Figura 1)

- Positivo: dos líneas coloreadas (control y prueba)

- Negativo: solo se colorea la línea control
- No válido: No hay línea en la marca control.

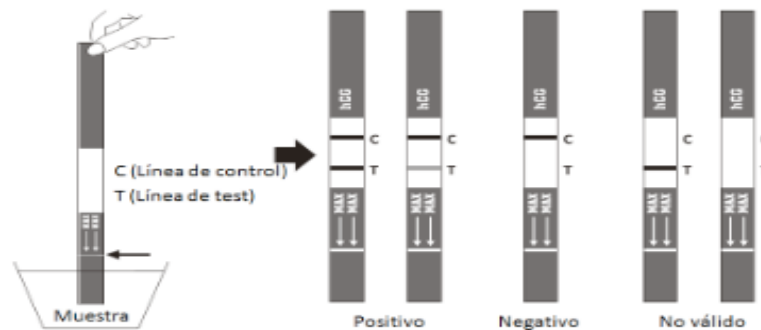


Figura 1. Prueba rápida de embarazo. Fuente: Insert MonlabTest® hCG.

2. TEST DE DROGAS EN ORINA

Droga de abuso es toda sustancia de uso no médico con efectos psicoactivos capaz de producir cambios en la percepción, el estado de ánimo, la conciencia y el comportamiento, susceptibles de ser autoadministradas; atrayendo al sujeto que las ingiere al fenómeno de drogodependencia. Se emplean en métodos de cribado, principalmente en el laboratorio de urgencias.

Estos ensayos son rápidos y se adaptan a volúmenes de trabajo altos. Son ensayos cualitativos con buena sensibilidad, pero baja especificidad. El objetivo de estos métodos es la detección de muestras negativas. Las muestras positivas requieren un análisis posterior mediante otra metodología (como un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas), para la confirmación de un resultado y que no se trate de un falso positivo

2.1 Muestra

Se recoge en un recipiente de plástico o vidrio limpio y seco. Se puede usar orina recogida en cualquier momento del día y en el caso de no realizar la determinación en el momento, se puede almacenar en nevera hasta 48 horas.

2.2 Técnica

Para realizar el cribado, mayoritariamente se utilizan métodos basados en los inmunoensayos competitivos para la determinación cualitativa de varias drogas y sus metabolitos en muestras de orina. Se determinan más o menos drogas según el kit usado en el Servicio.

Estos métodos están fundamentados en reacciones competitivas antígeno-antígeno marcado/anticuerpo; por tanto, en caso de una concentración inferior al límite de detección de la droga de abuso en orina (resultado negativo) habrá señal porque hay reacción del antígeno con el anticuerpo y en presencia superior al límite de detección (resultado positivo) no habrá señal por estar el anticuerpo saturado.

2.3 Realización

Se aplica la orina en la almohadilla marcada por el test desde donde migrará por acción capilar. El kit contiene anticuerpos libres conjugados con oro, dirigidos contra cada una de las drogas que determina. En el caso de que no haya droga en la muestra, éstos se fijarán a la línea control de la misma (que contiene un pequeño extracto). Sin embargo, en caso de haber droga en la muestra, los anticuerpos se unirán a ella y migrarán por toda la tira, no apreciándose línea.

2.4 Interpretación

Se debe leer el kit a los 5 minutos de la aplicación de la muestra (nunca más tarde de 8 minutos).

- No válido: Si no se marca la línea control en cada casillero, se considerará el test no válido.
- Positivo: Si no se aprecia línea en la posición de la droga. En casos de positivos dudosos (línea muy tenue que apenas se aprecia) habría que mirar el punto de corte en el insert ya que es conveniente informarlo al clínico y revisar también el tratamiento o las posibles drogas de abuso que haya podido tomar el paciente.
- Negativo: Si se aprecia línea en la posición de la droga.

2.5 Limitaciones

- Posibilidad de reacciones cruzadas con la medicación del paciente (se valora cuando el resultado no concuerda con la clínica o sospecha del clínico). En la tabla 1 se describen las principales drogas de abuso y los posibles falsos positivos que se pueden encontrar.
- El resultado debe analizarse junto al contexto clínico y nunca de manera individual.
- Un resultado positivo confirma la presencia de la droga en la orina, pero no es posible conocer la concentración de la misma o la frecuencia de consumo. Además, un resultado positivo no implica el consumo del tóxico ese día, sino que hay que tener en cuenta la ventana de positividad:
 - Benzodiazepinas: 3 días tras la ingesta y hasta 4-6 semanas en consumo crónico.
 - Anfetaminas y metanfetaminas: entre 2-4 días.
 - Cocaína: 1-3 días.
 - THC: 1-3 días en caso de uso esporádico y hasta 30 en consumo crónico.
 - Metadona: 2-4 días.
 - Barbitúricos: 2-4 días en consumo esporádico, pero más de 30 si es crónico.
 - Fenciclidina (PCP): 3-8 días tras el consumo.
 - Opiáceos: 2-3 días tras el consumo.
 - ATC: 10 días tras el consumo.
- Para conocer la concentración podrían realizarse otras determinaciones como la cromatografía de masas en tándem, disponible en muy pocos centros.

Sustancia de abuso	Sustancia detectada	Cut-off (ng/mL)	Efectos tóxicos	Falsos positivos
Anfetamina	D-anfetamina	1000	Aneurisma cerebral. Hemorragia subaracnoidea.	Efedrina, pseudoefedrina
Barbitúricos	Secobarbital	300	Tendencia suicida.	AINES
Benzodiacepina	Oxazepam	300	Bradicardia, hipotensión, hipotermia, bradipnea.	AINES, clorpromazina
Cocaína	Benzoilecgonina	300	Agitación, dilatación pupilar. Aumento frecuencia cardíaca y tensión arterial.	Anestésicos tópicos
Marihuana (THC)	THC	50	Complicaciones pulmonares. Alteraciones de la memoria	AINES
Metanfetamina	D-metanfetamina	1000	Esquizofrenia de tipo paranoide	Efedrina, pseudoefedrina
Opiáceos	Morfina	300	Depresión de SNC, miosis y depresión respiratoria	Codeína, dextrometorfano
Antidepresivos tricíclicos	Nortriptilina	1000	Neurológicas y cardiovasculares	Quetiapina, antihistamínicos estructuralmente semejantes

Tabla 1: Principales drogas de abuso que se determinan en el laboratorio de urgencias. Elaboración propia.

AINES: Antiinflamatorios No Esteroides.

2.5 Informe de laboratorio

En el informe que manda el laboratorio al clínico debe de aparecer un resultado cualitativo una vez se hayan visualizado los paneles de drogas. Además, se debería incluir los puntos de corte a partir de los cuales la muestra da positivo.

Si en la determinación de la droga aparece una banda, informaremos el resultado como negativo, en cambio si no aparece banda, el resultado se informará como positivo. En los casos en los que la banda sea dudosa ha de comunicar al clínico para que este tome las decisiones oportunas tras haber hecho una anamnesis del paciente.

Actualmente, existen escáneres que evalúan la intensidad de la banda, proporcionando de manera automática un informe de resultados. Una limitación del uso de este tipo de cribado de drogas es la reactividad cruzada debida a una baja especificidad de detección de cada droga por parte de los anticuerpos empleados. Además, existe la posibilidad de tener resultados falsos positivos, los cuales, a pesar de dar un resultado positivo en la determinación analítica, la clínica del paciente es negativa.

Existe la necesidad de confirmar ciertos resultados mediante la extracción de sangre, ya sean drogas de abuso o las intoxicaciones etílicas. Dichas muestras serán enviadas al laboratorio toxicológico de referencia, teniendo en cuenta una serie de condiciones, como la conservación de la muestra o la cadena de custodia.

3. Bibliografía

1. Insert Drug Screen Multitask de Menarini®
2. Insert MonlabTest® hCG
3. Importancia del laboratorio clínico en el análisis de drogas de abuso. Educación continuada en el laboratorio clínico; 16: 109-108. 2012-2013. Comisión de Monitorización de Fármacos y Toxicología Clínica de la SEQC.

CAPÍTULO 12. FASE POSTANALÍTICA

Carmen Ferrer Moure ^{1*} y Paula Sirera Sirera ^{2*}

¹ Residente de Bioquímica Clínica. Hospital Universitario de Canarias, Santa Cruz de Tenerife.

² Residente de Análisis Clínicos. Hospital General Universitario de Alicante, Alicante.

* Ambos autores contribuyeron igualmente.

1. INTRODUCCIÓN

La gestión del proceso postanalítico incluye la conservación de especímenes, la eliminación de residuos originados, la limpieza y descontaminación del material reutilizable, la validación facultativa de los resultados y la configuración y emisión de informes. En este documento se revisarán los dos últimos puntos en los que el facultativo de laboratorio tiene un papel central.

La norma UNE-EN ISO 15189:2013 proporciona requisitos técnicos para la gestión de este proceso postanalítico. Muchos laboratorios ya se han acreditado siguiendo esta norma de forma que poseen documentación donde se detallan los procesos que se aplican en la fase postanalítica.

El primer paso tras el análisis de la muestra consiste en la revisión de los resultados obtenidos por el facultativo. Tras ella se procederá a la notificación y a la comunicación de los mismos.

2. REVISIÓN DE LOS RESULTADOS

En primer lugar, se tendrán en cuenta aspectos de la muestra y del cumplimiento de la calidad:

1. Se deben excluir errores en la **identificación** (paciente correcto), en la **extracción** o en la **manipulación** de la muestra (transporte, centrifugación, etc).
2. Asegurar el adecuado **proceso de medida**: interpretación de las alarmas proporcionadas por el analizador, realización correcta de diluciones, resultado dentro del intervalo lineal del método, etc.
3. Se deben detectar las posibles **interferencias** debidas tanto a las características de la muestra (ictericia, hemólisis, dilución con suero...) como a la situación clínica del paciente (anticoagulación, fármacos...).
4. Asegurar el cumplimiento del **control de calidad** interno.

En segundo lugar, se establecerán criterios de revisión teniendo en cuenta la información clínica y los resultados previos del paciente:

1. Se tendrán en cuenta los **límites de alerta** con el objetivo de realizar las comprobaciones pertinentes.

2. Considerar los **límites de referencia** del ensayo teniendo en cuenta aquellos resultados que excedan el límite de verosimilitud.
3. Tener en cuenta la diferencia de los resultados con el **histórico del paciente** (puede coincidir o no con el valor de referencia del cambio),
4. Asegurar la coherencia de los resultados con la **situación clínica y biológica del paciente** (edad, sexo, patología, etc).

3. ERRORES E INTERFERENCIAS

3.1 Errores en la identificación del paciente

Existen principalmente dos tipos de errores de identificación: por falta de información y por identificación incorrecta del paciente. La identificación puede ser incompleta por falta del nombre o número de historia del paciente, del motivo para realizar la medición o el examen *in vitro*, del médico solicitante, del diagnóstico, etc.

Estos errores son fáciles de detectar y solventar desde el área administrativa, en cambio es difícil detectar la identificación incorrecta de la muestra clínica de un paciente. Un error en la identificación de las muestras clínicas puede tener consecuencias muy perjudiciales, ya que puede identificarse la muestra clínica de un paciente con los datos de otro y viceversa. Esto implicaría un cruce de resultados entre dos pacientes que podría repercutir negativamente a ambos.

-Intercambio de paciente: mal etiquetado del volante, extracción del paciente equivocado, error en la conciliación de la petición electrónica o un error de transcripción de la secretaría.

-Intercambio de muestras: mal etiquetado de los tubos. En este caso, se debería anular esta muestra y solicitar una nueva extracción.

3.2 Interferencias

Existen diferentes tipos de interferencias en el laboratorio, a continuación, se detallan las más frecuentes:

3.2.1 Por contaminación por medicamentos: Heparina y otros anticoagulantes

Se vería afectada la muestra de coagulación (muestra con citrato), en la que observaríamos unos niveles del tiempo de trombloplastina parcial activada (APTT), así como del Tiempo de trombina (TT) superiores al límite de detección de las técnicas.

En el caso del TT, se puede corregir, determinando el tiempo de reptilase, si este nos da un resultado normal, nos confirma que la muestra con alta probabilidad está contaminada, ya que en este caso la trombina se ha sustituido por veneno de serpiente *Bothrops atrox*. que realiza la misma acción que la trombina, pero no es inhibida por la heparina.

En este caso, se debe poner el comentario: *“Muestra probablemente contaminada con medicación del paciente, si desea comprobar los resultados, envíe nueva muestra al laboratorio”*.

Otra alteración que podemos encontrar es un falso incremento en la determinación de niveles de litio en aquellos pacientes en los que la muestra se extrajo en tubo de heparina de litio en vez en heparina de sodio o en tubo de suero.

Además, muchos medicamentos pueden alterar las determinaciones, aunque es menos frecuente, es el caso del cloro con los salicilatos, la ranitidina con las metanfetaminas, etc...

3.2.2. Por contaminación con suero glucosado

La determinación de la glucosa estaría muy por encima del rango de referencia, las proteínas totales estarían bajas, así como la hemoglobina, respecto a anteriores analíticas de dicho paciente; en este caso se puede solicitar a enfermería que le realicen al paciente un BM test, para comprobar su glucosa en sangre y en caso de que no se corresponda con la de nuestra muestra, se debe anular y solicitar nueva extracción. En estos casos es interesante comprobar el valor del potasio, ya que en muchos casos los sueros glucosados se administran junto con este ion y su elevación puede servirnos de ayuda adicional.

3.2.3 Por contaminación con suero salino

Las principales determinaciones alteradas serían los iones, el sodio y el cloro sobre todo al ser NaCl el suero salino, el resto de los parámetros se verían disminuidos respecto a analíticas previas; se debe rechazar esta muestra y solicitar una nueva extracción. En ocasiones la contaminación no es muy llamativa y podemos dudar, puede ser muy útil comprobar el resultado de la creatinina, la hemoglobina o algún parámetro bioquímico que el paciente presentase elevado. Un descenso de varios parámetros con diferente significación clínica en la misma proporción debe hacernos sospechar de contaminación por vía.

Se debería poner un comentario en ambos casos "*Contaminación de la muestra con suero glucosado/salino, se solicita extracción de nueva muestra*". En estos casos se deberían extraer todas las muestras que se le hayan solicitado al paciente, ya que, estarían todas diluidas.

3.2.4 Por contaminación cruzada con anticoagulante EDTA

Este tipo de interferencia aparece cuando los tubos de sangre no se extraen en el orden correcto y se produce un arrastre de anticoagulantes.

Normalmente el anticoagulante EDTA suele ser potásico, por lo que veríamos los niveles de potasio muy elevados (prácticamente incompatibles con la vida humana) y, debido a que el mecanismo de acción de este anticoagulante es quelar el calcio iónico, si solicitados la determinación de este ion en el suero, veremos los niveles muy disminuidos.

En este caso se debería poner un comentario de "*Contaminación de la muestra con EDTA*" y solicitar nueva extracción del tubo de suero.

En ocasiones el orden de extracción no es el adecuado y podemos encontrar cambios muy leves que no se explican con la clínica del paciente, uno de los ejemplos más típicos es iniciar la extracción con el tubo EDTA, en estos casos es posible que encontremos un ligero

descenso del calcio y el magnesio junto con un incremento de sodio. Una coagulación alterada sin justificación clínica puede explicarse también por este fenómeno.

3.2.5 Por reacciones inmunológicas cruzadas o la presencia de cromógenos no deseados

Es el caso de la biotina y algunos suplementos vitamínicos que interfieren en varias determinaciones de inmunoensayo. Los anticuerpos heterófilos que presentan algunos pacientes pueden dar también resultados discordantes. O la polimerización de algunos analitos, como la prolactina, la amilasa o la TSH que provocan falsas elevaciones en los resultados que se solucionan tras su precipitación con PEG.

3.2.6 Interferencias analíticas en los inmunoensayos

Las interferencias por hemólisis, ictericia y lipemia son probablemente los errores más frecuentes que nos encontramos en el día a día del laboratorio, a continuación, detallamos algunas recomendaciones para solventar este problema:

- a) Tener precaución si hay más de un índice alterado, puesto que todavía no se han validado los algoritmos, de modo que se debe hacer una interpretación para cada índice para evaluar la integridad de la muestra.
- b) A diferencia de la hemólisis (in vitro), la ictericia y la lipemia están asociadas a la clínica y las características del paciente, así que, no se pueden eliminar mediante nueva extracción. Los laboratorios deben tener presente la existencia de muestras difíciles de obtener (LCR, biopsia...), la existencia de pacientes con extracción difícil (neonatos, ancianos), así como, el impacto clínico de la falta de resultado (hipo/hiperglucemia).

➤ **Acciones en respuesta a la hemólisis:**

Primero habría que diferenciar si la hemólisis es in vivo (alrededor de un 3% de las muestras) o in vitro (todas las muestras con diferentes anticoagulantes estarían hemolizadas, los valores del potasio no se corresponden con la LDH o la AST...).

- Si el laboratorio decide no informar las magnitudes afectadas, el informe de resultados debería contener una explicación del motivo.
- Si el laboratorio decide informar la magnitud afectada, la presencia de hemólisis debe ser claramente indicada en el informe. Se debe incluir una frase indicando la magnitud y la dirección de la interferencia (*“Valor posiblemente incrementado/disminuido por hemólisis. Se recomienda extraer nueva muestra”*).
- Si el laboratorio decide eliminar los resultados afectados por la hemólisis: en lugar del resultado, se debe proporcionar un comentario como *“La hemólisis excede las especificaciones de calidad de la prueba. Se recomienda nueva extracción”*. En una muestra con >10 g/L de hemoglobina libre, se deberían eliminar todos los resultados y solicitar una nueva muestra.
- La decisión de realizar otra extracción o informar el resultado afectado debe tomarse en el contexto del impacto en el cuidado del paciente.

Debe considerarse la posibilidad de hemólisis in vivo si se reciben muestras repetidamente hemolizadas, puede ser de utilidad para identificar la presencia de urobilinógeno en la tira de orina o la determinación de haptoglobina si disponemos de ella. La observación del frotis de sangre periférica puede ayudar.

Se desaconseja fuertemente que se utilicen fórmulas para corregir los resultados.

En cuanto a la inclusión del índice de hemólisis en el informe de laboratorio: El grado de hemólisis se debe convertir en unidades arbitrarias del instrumento a unidades de g/L de hemoglobina libre para mejorar la armonización.

Los laboratorios clínicos deben utilizar materiales de control específicos para IH para una monitorización continua.

➤ **Acciones en respuesta a la ictericia:**

Las interferencias que produce son: Interferencia física (por absorción de luz) e interferencia química (por reacción con el peróxido de hidrógeno). En caso de que el Índice de Ictericia sea inferior a 1 unidades arbitrarias, se anularía la determinación de la Bilirrubina total (Comentario a la prueba: “Con un índice de confianza del 99,2%, el valor de bilirrubina está por debajo de 1,2 mg/dL”); si por el contrario, no se le ha solicitado la determinación de la bilirrubina total al paciente y vemos un índice de Ictericia superior a 2,5 unidades arbitrarias, debemos crear y determinar la bilirrubina total (Comentario a la prueba: “Se añade la determinación de bilirrubina total por muestra icterica”). Para solventar esta interferencia:

- 1) Podemos diluir la muestra: Si la ictericia post-dilución es inferior al punto de corte para la interferencia, se puede informar el resultado con un comentario.
- 2) Añadir aditivos para eliminar bilirrubina: K4Fe (CN)6, bilirrubina oxidasa, peroxidasa, NaOH y ácido tricloroacético.

➤ **Acciones en respuesta a la lipemia:**

Las interferencias que produce son: alteraciones en las lipoproteínas (dislipemias), alteraciones del metabolismo del glicerol y detección de errores por falta de ayuno. Para solventar estos errores:

- Podemos diluir la muestra, como máximo 1:2 o 1:3.
- Podemos centrifugar la muestra a 100.000-2.000.000 g.
- Realizar una extracción con polietilenglicol, ciclodextrina o triclorotrifluoroetano.

La lipemia elevada afecta con frecuencia a los iones, especialmente al sodio, la pseudohiponatremia por hipertrigliceridemia es muy habitual y se produce en aquellos equipos que emplean potenciometría indirecta, para solventarlo cuando es necesario un resultado urgente de iones podemos emplear el gasómetro, la mayoría de estos equipos emplean potenciometría directa que no se ve afectada por esta interferencia.

Una vez que el resultado ha sido revisado y se ha realizado la validación facultativa se procede a su notificación mediante el informe de laboratorio.

4. NOTIFICACIÓN Y EDICIÓN DE LOS RESULTADOS

El laboratorio clínico tiene como misión **elaborar informes** útiles a partir del estudio de muestras de origen humano, para ayudar al diagnóstico, pronóstico o seguimiento de un episodio clínico.

El informe de laboratorio debe ser claro y conciso, sin dar lugar a ambigüedad e incluir toda la información necesaria para su correcta interpretación.

4.1 Características y contenido del informe

El informe de laboratorio debe incluir la información requerida por la legislación de cada país. En España aplica el RD 1093/2010 del 3 de septiembre donde se detallan el conjunto mínimo de datos que deben contener los informes clínicos de resultados de pruebas de laboratorio en el Sistema Nacional de Salud (SNS). Además, la norma UNE también recoge que el laboratorio debe facilitar asesoramiento clínico mediante comentarios interpretativos. En el informe se incluirá:

1. **Información sobre el paciente:** identificación y ubicación.
2. **Información sobre el solicitante:** identificación e información de contacto.
3. **Información sobre el Laboratorio:** identificación del laboratorio que lo emite y de los laboratorios subcontratados si procede.
4. **Fechas:** fecha de solicitud, hora de extracción de la muestra (si repercute sobre el análisis) y fecha de emisión del informe.
5. **Información sobre la muestra:** tipo, fecha y hora de toma de muestra, así como comentarios sobre la calidad de esta.
6. **Información sobre el análisis:** determinación realizada y método analítico si procede.
7. **Revisor:** identificación de la persona que revisa y emite el informe.
8. **Resultados:**
 - a) Resultado y unidades.
 - b) Intervalo de referencia o valores de decisión clínica
 - c) Identificar los resultados que se encuentran en intervalo de alarma.
 - d) Inclusión de comentarios interpretativos: el comentario ideal describe la normalidad/anormalidad de un resultado de medida con una interpretación de la información que aporta conocimiento para el seguimiento, recomendando, si aplica, pruebas adicionales o una derivación al especialista. Estos comentarios deben estar estandarizados por el personal facultativo del laboratorio.

TIPOS DE COMENTARIOS QUE SE PUEDEN INCLUIR EN EL INFORME		
Tipo	Objetivo	Ejemplo
Alta/ampliación de pruebas	En el momento de la validación facultativa se dan de alta pruebas que puedan completar el informe o sacar mayor rentabilidad diagnóstica o pronóstica a las muestras disponibles.	Cuando TSH alta y T4 libre normal dar de alta T3 libre: "A la vista de los resultados obtenidos se procede a la realización de T3 libre para diferenciar entre un posible hipertiroidismo T3 o un hipertiroidismo subclínico"
Interpretativos	Información sobre el resultado obtenido que pueda ser de interés para el clínico.	Cuando solicitan una troponina desde Urgencias: "Aparece a las 3-6h tras un IAM. Permanece elevada entre 7-9 días. Es el marcador diagnóstico de elección en IAM por su elevada especificidad".
Información adicional	Comentarios que se añaden cuando a la muestra se le solicitan ciertos parámetros dando información adicional a la aportada por los parámetros de forma individual.	Cuando al paciente se le solicita colesterol total (CT) y HDL: "Aumento de riesgo cardiovascular si cociente CT/HDL > 5".
Oferta de participación del Laboratorio	Para controlar a determinados pacientes.	Cuando se determina nivel plasmático de un fármaco: "Si desea seguimiento o monitorización de este paciente, póngase en contacto con el Laboratorio".

Tabla 1. Tipos de comentarios que se pueden incluir en el informe de laboratorio. Elaboración propia.

5. COMUNICACIÓN Y ENTREGA DE LOS RESULTADOS

Tras la emisión del informe se debe proceder a la comunicación de resultados. Esto se realiza habitualmente de forma automatizada transmitiéndolos a través del SIL a la historia clínica. También puede realizarse oralmente en cuyo caso debe registrarse de forma adecuada. En la comunicación de resultados existen situaciones excepcionales que merecen ser destacadas:

5.1 Comunicación de valores críticos

Se entiende como valor crítico aquel resultado tan alejado de la normalidad que puede poner en peligro la vida del paciente a menos que se inicie rápidamente un tratamiento apropiado. Su notificación al personal clínico a cargo del cuidado del paciente es una responsabilidad de los laboratorios, esencial para la seguridad del paciente y sinónimo de calidad en la fase postanalítica.

El establecimiento de los respectivos valores críticos debe ser previsto por cada laboratorio, teniendo en cuenta las características de la población de pacientes que atiende el servicio, las enfermedades más prevalentes y su fisiopatología, estableciendo consenso con los clínicos.

La notificación más eficaz se produce entre el facultativo de laboratorio y el médico responsable.

5.2 Notificación de resultados de laboratorios externos

Cuando se recurre a un laboratorio subcontratado para la realización de alguna prueba debe existir un registro de las peticiones, las muestras y los resultados de todos los envíos a laboratorios externos, de forma que permita la trazabilidad del proceso.

La revisión facultativa de los resultados de las pruebas realizadas en laboratorios subcontratados suele realizarse por el laboratorio externo. Éste debe asegurarse de cumplir los requisitos preestablecidos.

Debe evitarse la transcripción de resultados intentando que haya transmisión de los mismos mediante comunicación entre los SIL. Si esto no es posible deben adjuntarse los informes externos en PDF a la petición electrónica.

El seguimiento de un proceso estandarizado en la fase postanalítica facilita su gestión, mitiga los errores y ayuda a interpretar los resultados de laboratorio aportando valor a todo el proceso.



Figura 1. Esquema de las actuaciones del facultativo de laboratorio clínico en el proceso postanalítico.
Elaboración propia.

6. BIBLOGRAFÍA

1. ISO 15189. ISO 15189:2012 Medical laboratories requirements for quality and competence; 2012. Available from: [Http://Www.Iso.Org/Iso/Catalogue_Detail?Csnumber=56115](http://www.iso.org/iso/catalogue_detail?csnumber=56115) [Fecha de consulta 22 Ene 2016].
2. López Yeste et al.: Consideraciones para la revisión, notificación y comunicación de resultados según ISO 15189. Adv Lab Med 2020; De Gruyter.
3. Panunzio, Amelia Patricia, Núñez, Milagros Coromoto, & Molero, Tania María. (2015). Gestión de la comunicación de valores críticos en el laboratorio clínico. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica,34(4), 70-74. Recuperado en 21 de diciembre de 2020, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-02642015000400006&lng=es&tlng=es.
4. Errores en el laboratorio clínico. Ruth Cano Corres. Laboratori Clínic, Hospital Universitari de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat. Xavier Fuentes Arderiu. Consultor en Ciències de Laboratori Clínic, Barcelona

5. Patient identification errors: The detective in the laboratory. Clinical Biochemistry. Elsevier. Maria Salinas, Maite López-Garrigós, Rosa Lillo, Mercedes Gutiérrez, Javier Lugo, Carlos Leiva- Salinas.
6. Royal College of Pathologists of Australasia – Quality Assurance Program (RCPA-QAP)
7. Manejo de la muestra hemolizada, icterica o turbia. Guías de actuación. XVII jornadas del comité científico. Comisión de la Calidad Extraanalitica SEQC-ML.

CAPÍTULO 13. CONTROL DE CALIDAD Y CALIBRACIÓN

Cristina Alberdi García del Castillo ¹

¹ Residente de Análisis Clínicos. Hospital Universitario de Cabueñes, Gijón.

1. INTRODUCCIÓN

Los resultados que proporcionamos en el laboratorio clínico buscan tener la máxima exactitud posible, a fin de poder tomar la mejor decisión clínica de acuerdo con ellos y poder comparar dichos resultados con anteriores o posteriores y entre otros laboratorios.

En la actualidad, el cuerpo normativo fundamentado en las normas ISO, consideran que el concepto exactitud es la suma de veracidad y precisión.

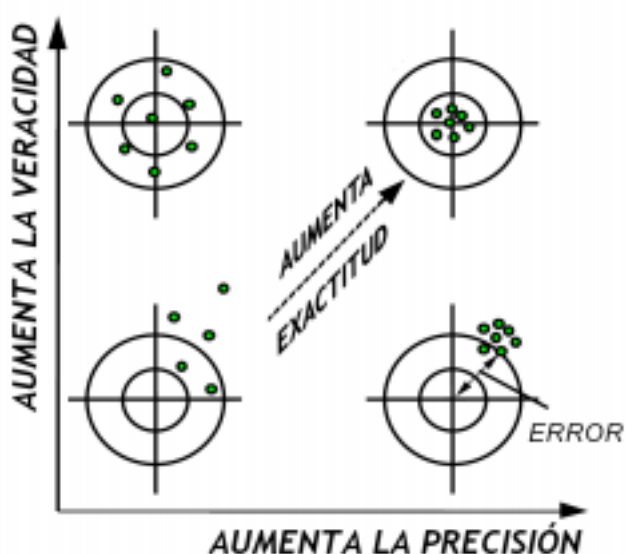


Figura 1: Concepto actual de exactitud. Fuente: Morancho Zaragoza J, Prada de Medio E. Control interno de la calidad en procedimientos de medida cuantitativos. Edición 1. Lección 1

Veracidad de medida: Proximidad entre la media de un número infinito de valores medidos repetidos y un valor de referencia.

Precisión de medida: proximidad entre las indicaciones o los valores medidos obtenidos en mediciones repetidas de un mismo objeto, o de objetos similares, bajo condiciones especificadas.

Una de las herramientas que permite tener garantía de la exactitud de los resultados es el control de calidad interno (CCI).

2. CONTROL DE CALIDAD INTERNO

Es el procedimiento que utiliza los resultados de un solo laboratorio con el propósito de controlar la calidad. Se lleva a cabo íntegramente en el laboratorio y consiste en el procesamiento de diferentes materiales de control de los que conocemos sus características. Actualmente la mayoría son productos comerciales que vienen ya con los valores de magnitud asignados. Los materiales de control se procesan en cada serie

analítica y su utilidad principal es aceptar o rechazar cada serie analítica ya que los resultados se obtienen en el momento y nos permite tomar decisiones a tiempo real.

Los errores analíticos constituyen el eje del sistema del control de calidad interno del laboratorio clínico. Dichos errores pueden ser:

Errores aleatorios: generan imprecisión, es decir, incapacidad de obtener el mismo resultado cuando se analizan muestras idénticas, y se expresa mediante el coeficiente de variación.

Errores sistemáticos: producen inexactitud o desviación de los resultados con respecto al valor verdadero y se expresan como porcentaje de desviación con respecto al valor teórico.

Los procedimientos del control interno permiten verificar la imprecisión del proceso analítico, pero es muy difícil verificar la inexactitud. Ésta se suele valorar participando en programas de control de calidad externo.

3. CONTROL DE CALIDAD EXTERNO

Es un procedimiento en el que se utilizan los resultados de varios laboratorios que analizan los mismos especímenes, materiales de control que son ciegos en este caso, y una vez procesados se envían los resultados obtenidos al organizador del programa de control de calidad. Nos permite comparar los resultados obtenidos para verificar si hay homogeneidad entre ellos (comparación entre los laboratorios) y conocer la inexactitud de cada laboratorio participante de forma independiente.

Existen dos tipos de programa de control externo:

Programas externos-internos o de garantía de calidad: son diarios y calculan la imprecisión y la inexactitud de cada laboratorio ya que se compara con laboratorios que emplean los mismos métodos.

Programas externos puntuales o de acreditación: son de frecuencia variable. Verifican la imprecisión y la inexactitud de cada laboratorio y del conjunto de laboratorios, acreditando la calidad de los participantes.

4. GRÁFICOS DE CONTROL DE CALIDAD

Los resultados de control pueden ser representados gráficamente a lo largo del tiempo para dar lugar al gráfico de control:

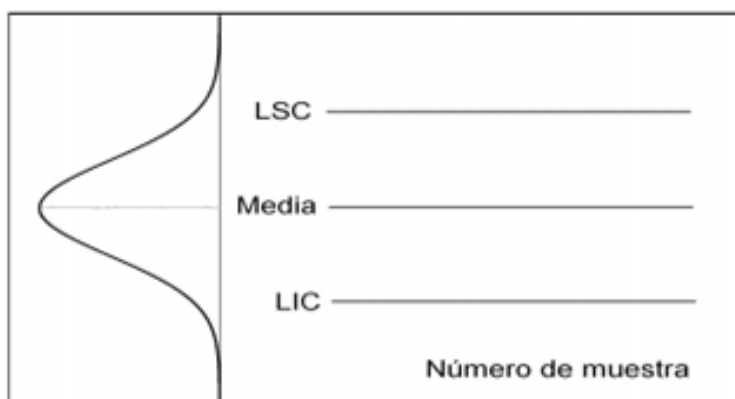


Figura 2: Representación básica de gráfica de control. Fuente: Control estadístico de calidad. Tema 3. IG23. Ampliacion d'Estadística.ETIG.Curs 2003/04

El gráfico tiene una línea central que representa el valor medio de la magnitud analizada en la muestra de control en situación de estabilidad del procedimiento de medida. Hay también otras dos líneas horizontales, llamadas **Límite Superior de Control (LSC)** y **Límite Inferior de Control (LIC)**.

Las líneas están situadas en función de:

$$\text{LSC} = \text{Media} + k \text{ DT}$$

$$\text{Línea central} = \text{Media}$$

$$\text{LIC} = \text{Media} - k \text{ DT}$$

Donde k es la distancia entre los límites de control y la línea central, expresada en desviaciones típicas.

Un valor que se ubique entre los límites de control nos informa que el procedimiento de medida representado por el resultado de muestra de control no ha sufrido un cambio, con respecto a la situación de estabilidad y podremos dar el resultado por bueno.

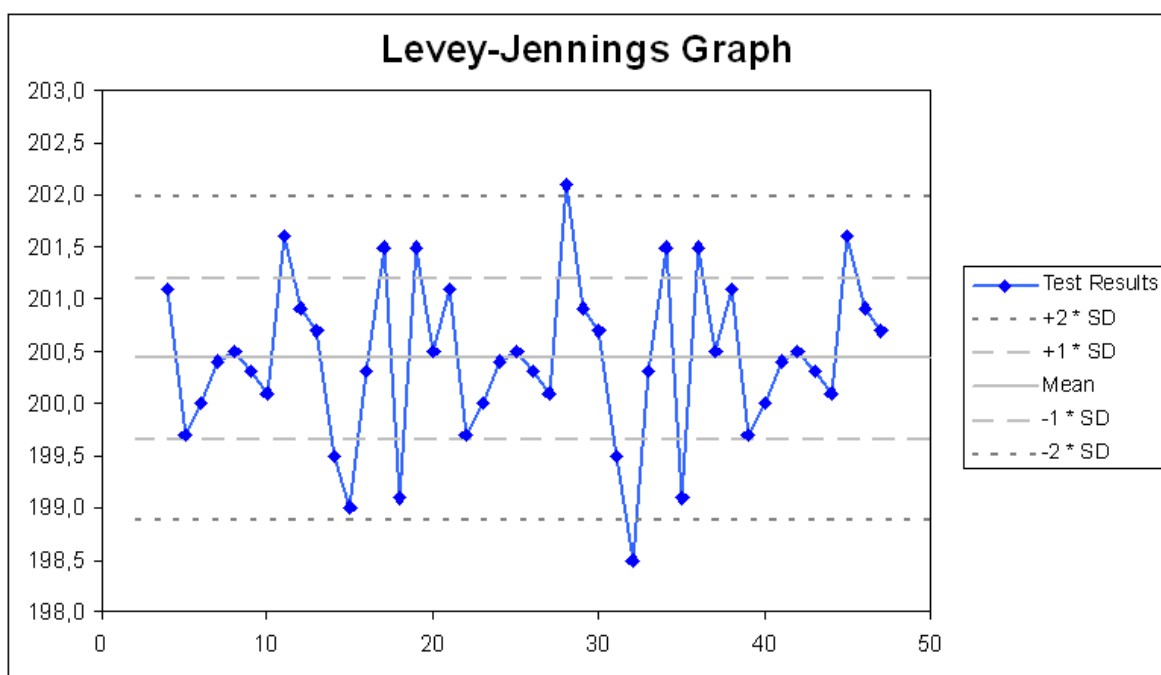


Figura 3: Ejemplo de gráfico de Levy-Jennings. Fuente: Wikipedia

En el laboratorio clínico también se utiliza una ligera modificación de estos diagramas en los que, en el eje de las ordenadas se sitúan otros límites de control que también están en función de k y sirven para aplicar visualmente las reglas estadísticas de control de calidad.

Esta representación gráfica nos muestra de forma visual si existe un problema de inexactitud, bien porque se observa que los valores de nuestro control están siempre por encima o por debajo de la media teórica o porque vemos que existe una tendencia a ir aumentando o disminuyendo los valores obtenidos del control en función del tiempo.

5. CALIBRACIÓN

Es el proceso que consiste en comparar y documentar la medición de un instrumento de medida respecto a un estándar de referencia trazable.

Materiales de calibración: son soluciones que contienen sustancias de concentración conocida y en las que el disolvente puede ser acuoso o bien orgánico. Los calibradores con disolvente orgánico son mejores porque tienen unas características físico-químicas (matriz) más similares a las de los especímenes del laboratorio.

Normalmente en el laboratorio deberemos calibrar cuando:

- No obtenemos un valor del control interno dentro de los rangos establecidos
- Cambio de lote del control interno
- Cambio del reactivo
- Mantenimiento de los analizadores

5.1 Gráficas de calibración

El procedimiento para elaborar las gráficas de calibrado es el siguiente:

Se toman una serie de patrones de calibración de los que se conoce la concentración del analito.

Estos patrones se miden en el analizador, y se representa gráficamente la concentración de cada uno de los patrones frente a las respuestas de medición. Una vez elaborada dicha gráfica, se puede obtener mediante interpolación (menos en algún caso que se hace por extrapolación) la concentración de la muestra a determinar midiendo ésta con el instrumental analítico en las mismas condiciones en las que se hizo la medida de los patrones.

Para ello, es necesario encontrar la forma de obtener una curva de calibración lo más recta posible, ajustándose a una serie de puntos experimentales, donde cada punto se encuentra definido por una variable X (variable independiente, concentración del analito) y una variable Y (variable dependiente, respuesta instrumental).

Los puntos de calibración tienen un error aleatorio causado por la respuesta instrumental, en el valor de Y.

Hay que buscar la mejor recta que pase por los puntos de calibración y calcular la ordenada en el origen y la pendiente de la misma. El método usado para conseguir una recta que pase por los puntos de calibración, se conoce como regresión lineal simple o método de los mínimos cuadrados.

Hay una serie de parámetros importantes para valorar la calidad de un método que se pueden determinar de la curva de calibración:

- **Linealidad:** se define como la capacidad del método para proporcionar resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra dentro del intervalo de trabajo.

A partir de la curva de calibración, se puede obtener la ecuación de la recta de la que se obtiene un coeficiente de correlación (r). Para una buena garantía de linealidad, será conveniente medir en cinco niveles de concentración, que abarquen el intervalo de trabajo, y repetir este proceso tres veces.

Se considera que un valor de r representa un buen ajuste lineal, cuanto más próximo a 1 se encuentre.

- **Límite de detección:** se define como la cantidad mínima de analito en la muestra que se puede detectar.

Existen diferentes procedimientos para determinar este límite, uno de ellos es usando la curva de calibración mediante la relación entre tres veces la desviación estándar de la respuesta lineal (S_b), y la sensibilidad que en la ecuación de la recta corresponde a la pendiente (b). Se calcula midiendo una señal de un blanco más tres veces su desviación estándar.

$$LD = \frac{3 \times S_b}{b}$$

- **Límite de cuantificación:** es la mínima cantidad de analito presente en la muestra que se puede cuantificar, bajo unas condiciones establecidas para dicho método, con una exactitud y precisión adecuada.

El método de determinarlo es casi idéntico al del límite de detección, se distingue en que éste requiere una relación de diez veces la desviación estándar frente a la pendiente. Se calcula midiendo una señal de un blanco más diez veces su desviación estándar.

$$LC = \frac{10 \times S_b}{b}$$

- **Rango o intervalo lineal:** se define como el intervalo de concentración en que el analito puede ser determinado mediante la curva de calibración. Está comprendido entre el límite de cuantificación y el punto en el que la curva deja de ser lineal.

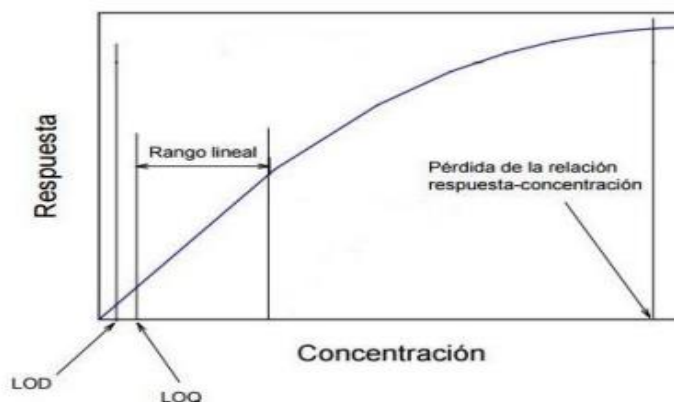


Figura 4: Parámetros relacionados con la calibración metodológica. Fuente: Espejo cuadrado, M. Importancia de la calibración en los laboratorios de química analítica. Trabajo de revisión bibliográfica. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. 2016.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Morancho Zaragoza J, Prada de Medio E. Control interno de la calidad en procedimientos de medida cuantitativos. Edición 1. Lección 1 y 2.
2. San Roman M. Calibración y control de calidad de instrumentos de análisis clínico. 2009.
3. Burnett. Acreditación del Laboratorio Clínico. Editorial Reveté; 2000
4. Canalias Reverter F. El laboratorio clínico y los sistemas de gestión de calidad. Educación continuada en el Laboratorio Clínico. SEQC; 2006

ANEXO Y

Los valores de referencia presentados en este anexo están obtenidos de la bibliografía que se expone en cada capítulo del manual.

VALORES DE REFERENCIA CAPÍTULO 2. MAGNITUDES BIOQUÍMICA EN SUERO.

Magnitud	Unidades	Límite inferior	Límite superior	Comentario
GLUCOSA	mg/dL	Adultos: 70 Niños: 40	Adultos: 110 Niños: 100	Endocrinopatías, diabetes mellitus, hepatopatías, alteraciones renales. Interferencias por corticosteroides, ácido etacrínico, adrenalina, fenitoína, furosemida, tiacidas, propranolol.
CREATININA	mg/dL	Hombres: 0,7 Mujeres: 0,6	Hombres: 1,3 Mujeres: 1,04	Alteraciones gastrointestinales y renales. Hepatopatías. Fallo cardíaco, sepsis, fiebre, rabdomiolisis. Interferencias por anfotericina B, kanamicina.
UREA	mg/dL	10	71	Alteraciones gastrointestinales y renales. Hepatopatías. Fallo cardíaco, sepsis, fiebre, rabdomiolisis. Interferencias por arsenicales, cefaloridina, furosemida, gentamicina, kanamicina, metildopa, neomicina, sales de antimonio.
BILIRRUBINA TOTAL	mg/dL	0,1	1,0	Hepatopatías (agudas y crónicas), colestasis, hemólisis, sepsis, tumores. Interferencias por clordiacepóxido, contrastes biliares, fenobarbital.
BILIRRUBINA DIRECTA	mg/dL	0,1	0,3	Inmadurez hepática, no conjugación.
ALT/GPT	U/L	7	33	Hepatopatías (agudas y crónicas), colestasis, pancreatitis, alteración cardíaca. Interferencias por ampicilina, cefalotina, clofibrato, colchicina, gentamicina, hidroxicoalamina, furosemida.

AST/GOT	U/L	5	32	Hepatopatías (agudas y crónicas), colestasis, pancreatitis, alteración cardiaca. Interferencias por ampicilina, cefalotina, clofibrato, colchicina, gentamicina.
AMILASA	U/L	0	130	Pancreatitis, hepatopatías (agudas y crónicas), obstrucción intestinal. Interferencias por fármacos colinérgicos, etanol, citrato u oxalato.
LIPASA	U/L	< 95		Pancreatitis, hepatopatías (agudas y crónicas), obstrucción intestinal.
LDH	U/L	135	250	Anemia megaloblástica, carcinoma diseminado, traumatismo. Trastornos musculares, hepáticos. Interferencias por clofibrato.
CREATINA QUINASA	U/L	0	170	Insuficiencia cardiaca (IAM, miocardiopatías), edema agudo pulmón, rabdomiolisis, traumatismo muscular, lesión cerebral. Interferencias por halotano, carbenexolona, carbono de Litio, clorhidrato de meperidina, Codeína, dexametasona, digoxina, etanol, fenobarbital.
PCR	mg/dL		< 0,5	Inflamación, traumatismos, neoplasias.
PCT	ng/mL		< 0,5	Infección y sepsis.
HIERRO	µg/dL	60	160	Anemias. Hemoglobinopatías. Daños a médula ósea. Interferencias por fármacos quelantes de metales
FERRITINA	ng/mL	30	Hombres: 300 Mujeres: 200	Reserva de hierro. Diagnóstico diferencial de anemia.

TROPONINA T	ng/L	< 0,1	14	Insuficiencia cardiaca (IAM, miocardiopatías), edema agudo pulmón, rabdomiolisis, traumatismo muscular, crisis epilépticas, lesión cerebral.
PRO-BNP	pg/mL	0,1	300	Insuficiencia cardiaca, hipertensión pulmonar, Interferencias por obesidad
Ión SODIO (Na⁺)	mEq/L	135	145	Alteraciones gastrointestinales y renales Diuréticos. Deshidratación.
Ión POTASIO (K⁺)	mEq/L	3,7	5,4	Alteraciones gastrointestinales y renales (diuréticos). Hemólisis, rabdomiolisis (destrucción celular). Crítico >7,5 (sin hemólisis). Interferencia ↑ por perclorato
Ión CLORO (Cl⁻)	mEq/L	93	110	Alteraciones gastrointestinales y renales Infección aguda
Ión CALCIO (Ca²⁺)	mg/dL	8,5	10,5	Alteraciones PTH, neoplasias, alteraciones vitamina D. Estudiar según proteína total o albúmina. Interferencias por andrógenos, progestágenos-estrógenos, corticosteroides, dihidrotaquisterol, diuréticos tiacídicos, acetazolamida, mitramicina.
ALBÚMINA	g/dL	3,5	5,2	Insuficiencia suprarrenal, pancreatitis, hepatopatías, quemaduras, hemorragias, infección. Interferencia ↑ por gammopatías (sobre todo IgM).

TABLA 1. Parámetros bioquímicos. Se indican las unidades de medida, los intervalos de referencia (es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores), y comentarios a tener en cuenta. PCT: procalcitonina

VALORES DE REFERENCIA CAPÍTULO 5. COAGULACIÓN.

Prueba	Rango de referencia	Resultados alterados debido a:
Tiempo de protrombina (TP)	11-13 segundos % de actividad: 60-120% Razón (INR): Pacientes no anticoagulados: 0,8-1 Pacientes anticoagulados: 2-3	Déficit de vitamina K Déficit o presencia de inhibidores contra los factores II, V, VII, X y fibrinógeno Tratamiento con anticoagulantes orales Hepatopatía Altas concentraciones de heparina CID
Tiempo de tromboplastina	25-35 segundos	Deficiencia o presencia de inhibidores contra factores: V, VIII, IX, X, XI, XII, protrombina y fibrinógeno Enfermedad Von Willebrand, Hemofilia A, B Tratamiento con heparina Presencia de anticoagulante lúpico Hepatopatía grave. CID.
TP y TTPA	Prolongados	Presencia de anticoagulante lúpico Hepatopatía Tratamiento con anticoagulantes (heparina, acenocumarol) CID, Shock, sepsis Hipofibrinogenemia/disfibrinogenemia
Fibrinógeno	150-450 mg/dL	Infecciones, inflamación, cirugía, sepsis, cáncer, aterosclerosis, hepatopatía grave, CID, traumatismos, embarazo
Dímero D	0-500 ng/mL	Enfermedad tromboembólica venosa, inflamación, infecciones, IAM, IC, CID, cirugía, traumatismos, cáncer, sepsis, hepatopatía, embarazo

Tabla 1. Pruebas básicas de coagulación realizadas habitualmente en urgencias, rangos de referencia con las unidades de medida (extraídos de la bibliografía) y patologías/tratamientos más frecuentes relacionados con alteraciones en los resultados.

VALORES DE REFERENCIA CAPÍTULO 6. HEMATIMETRÍA Y FÓRMULA MANUAL.

Magnitud	Unidades	Límite inferior	Límite superior
RBC (hematíes)	$10^{12}/L$	Hombres: 4,5 Mujeres: 3,8	Hombres: 5,5 Mujeres: 4,8
Hemoglobina	g/dL	Hombres: 13 Mujeres: 12	Hombres: 17 Mujeres: 15
Hematocrito	%	Hombres: 40 Mujeres: 36	Hombres: 50 Mujeres: 46
Volumen corpuscular medio (VCM)	fL	83	101
Hemoglobina corpuscular media (HCM)	pg	27	32
Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM)	g/dL	32	35
RDW	%	11,6	14
Leucocitos	$10^9/L$ (VR absolutos)	4	10
	% (VR relativos)	-	-
Neutrófilos	$10^9/L$ (VR absolutos)	2	7
	% (VR relativos)	40	80
Linfocitos	$10^9/L$ (VR absolutos)	1	3
	% (VR relativos)	20	40
Monocitos	$10^9/L$ (VR absolutos)	0,2	1
	% (VR relativos)	2	10

Eosinófilos	10 ⁹ /L (VR absolutos)	0,02	0,5
	% (VR relativos)	1	6
Basófilos	10 ⁹ /L (VR absolutos)	0,02	0,1
	% (VR relativos)	-	<2
Plaquetas	10 ⁹ /L	150	410
PDV	fL	9,9	15,4
VPM	fL	9,4	12,6

TABLA 3. Hemograma. Se indican las unidades de medida, los valores de referencia (obtenidos de la bibliografía, pueden variar entre laboratorios dependiendo de la población atendida).

ANEXO Z

Todas las imágenes representadas en este anexo son de elaboración propia.

FOTOGRAFÍAS CAPÍTULO 4. URIANÁLISIS.

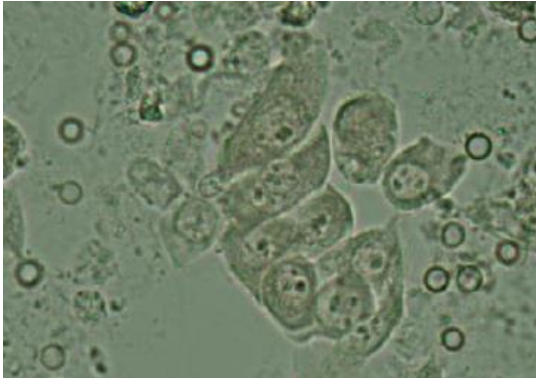


Figura 1. Células epiteliales tubulares renales al microscopio óptico de campo claro.

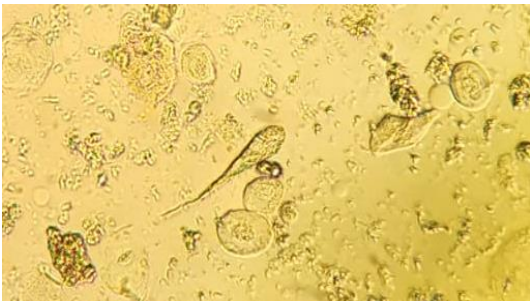


Figura 2. Células epiteliales de transición al microscopio óptico de campo claro.



Figura 3. Célula epitelial escamosa y leucocitos al microscopio óptico de campo claro.

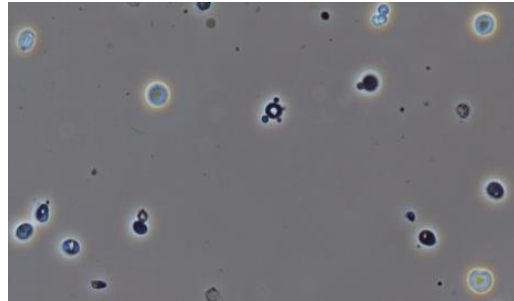


Figura 4. Hematíes isomórficos y dismórficos (acantocitos) al microscopio óptico de contraste de fases.



Figura 5. Cilindro hemático al microscopio óptico de campo claro.



Figura 6. Cilindro céreo al microscopio óptico de campo claro.



Figura 7. Cristal de oxalato de calcio monohidratado al microscopio óptico de campo claro.

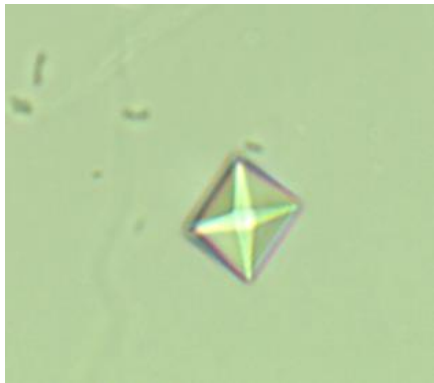


Figura 8. Cristal de oxalato de calcio dihidratado al microscopio óptico de campo claro.

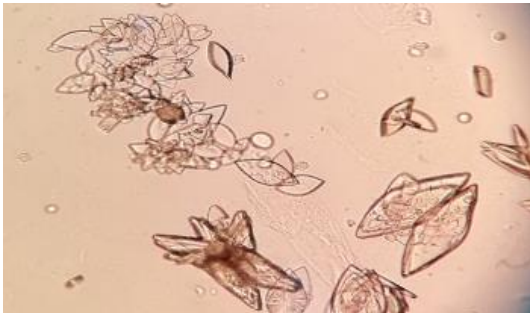


Figura 9. Cristales de ácido úrico al microscopio óptico de campo claro.

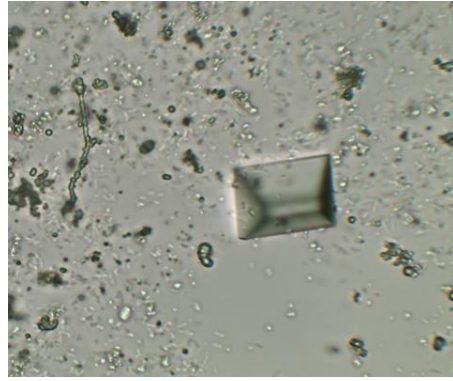


Figura 10. Cristal de fosfato amónico-magnésico al microscopio óptico de campo claro.

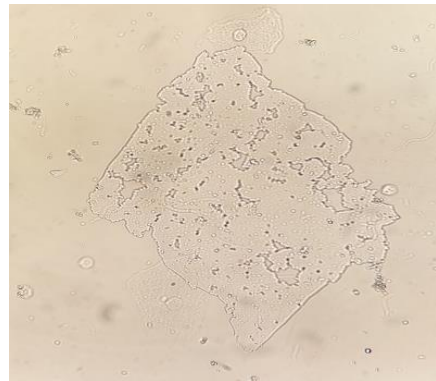


Figura 11. Fosfato octocálcico al microscopio de campo claro.

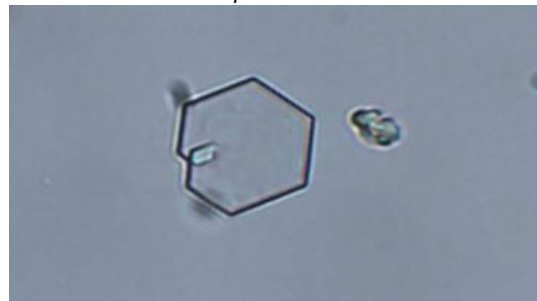


Figura 12. Cristal de cistina al microscopio óptico de campo claro

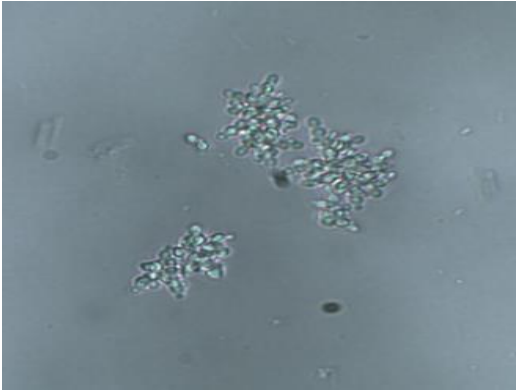























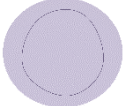



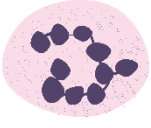



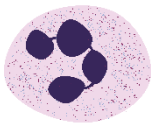


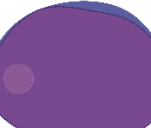




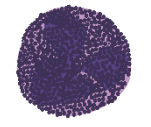


Figura 13. *Levaduras al microscopio óptico de campo claro*

IMÁGENES CAPÍTULO 6. HEMATIMETRÍA Y FÓRMULA MANUAL.

SERIE ROJA					
	Eritrocito normal		Dianocito		Fish cell
	Eritroblasto		Estomatocito		Eritrocito hipocrómico
	Microcito		Esquistocito		Eritrocito hiperocrómico
	Macrocito		Equinocito		Policromasia
	Esferocito		Acantocito		Punteado basófilo
	Eliptocito		Drepanocito		Cuerpos de Pappenheimer
	Ovalocito		Excentrocito		Cuerpo de Howell-Jolly
	Dacriocito		Queratocito		Anillo de Cabot

SERIE BLANCA			
	Neutrófilo		Neutrófilo hiposegmentado
	Banda		Neutrófilo hipersegmentado
	Metamielocito		Neutrófilo hipogranulado
	Mielocito		Neutrófilo hipergranulado
	Promielocito		Linfocito
	Blasto		Linfocito reactivo
	Monocito		Linfocito gran granular
	Eosinófilo		Basófilo

FOTOGRAFÍAS CAPÍTULO 10. MICROBIOLOGÍA

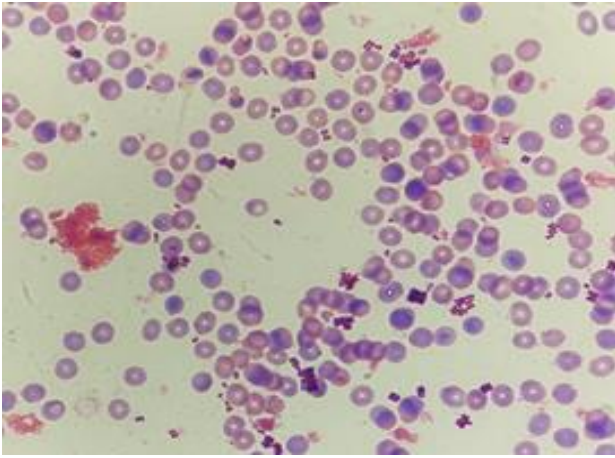


Figura 1: Cocos gram positivos.

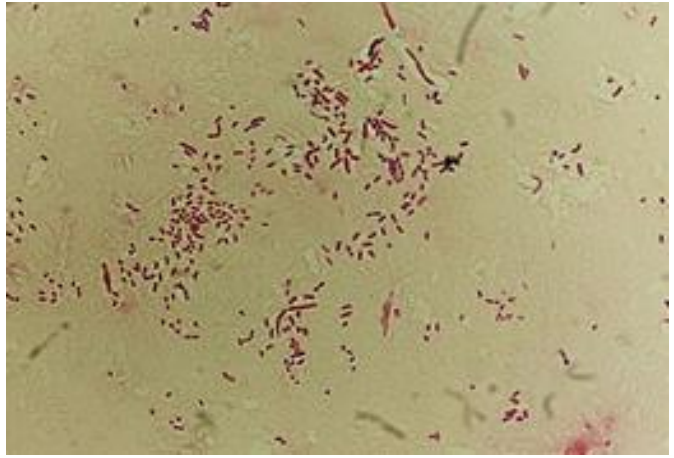


Figura 4: Bacilos gram positivos

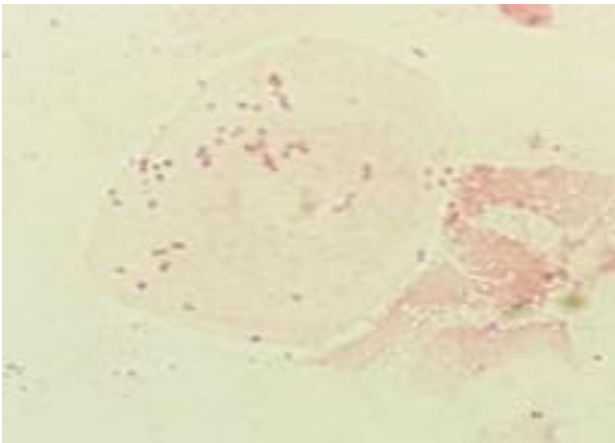


Figura 2: Cocos gram negativos.

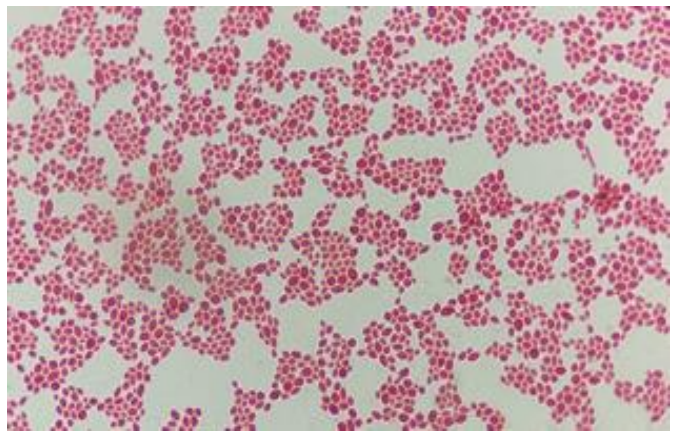


Figura 5: Levaduras

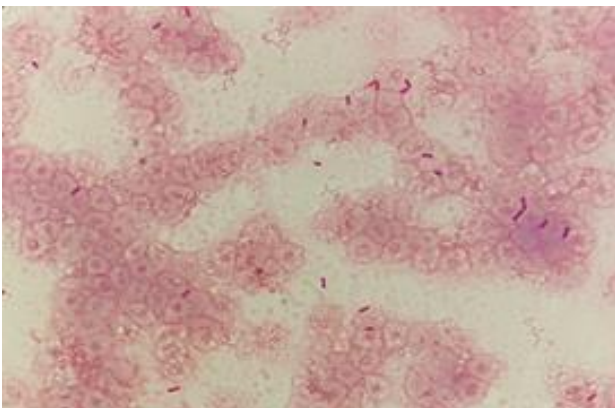


Figura 3: Bacilos gran negativos.